UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 104

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
DE LA TUBERCULOSE URINAIRE
ET PLUS PARTICULIÈREMENT
PAR LE PROCÉDÉ DE JOHN, J. MORTON
(Inoculation au cobaye irradié)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 14 Janvier 1934

PAR

Honoré-Antoine-Maurice ANGIBEAU

PHARMACIEN
EX-INTERNE EN PHARMACIE
EX-EXTERNE DES HÔPITAUX DE BORDEAUX
LAURÉAT DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX (Médaille de vermeil)
LAURÉAT DES HÔPITAUX (Médaille de bronze)

Né à FONTCOUVERTE (Charente-Inférieure), le 2 novembre 1904.

Examinateurs de la Thèse	MM. MURATET, professeur.....	*Président.*
	DUVERGEY, professeur.....	*Juges.*
	AUBERTIN, agrégé.....	*Juges.*
	DE GRAILLY, agrégé.....	*Juges.*

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR
6, Place Saint-Christoly

1934

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1933-1934. — N° 104

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
DE LA TUBERCULOSE URINAIRE
ET PLUS PARTICULIÈREMENT
PAR LE PROCÉDÉ DE JOHN, J. MORTON
(Inoculation au cobaye irradié)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Lundi 14 Janvier 1934

PAR

Honoré-Antoine-Maurice ANGIBEAU

PHARMACIEN
EX-INTERNE EN PHARMACIE
EX-EXTERNE DES HÔPITAUX DE BORDEAUX
LAURÉAT DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX (Médaille de vermeil)
LAURÉAT DES HÔPITAUX (Médaille de bronze)

Né à FONTCOUVERTE (Charente-Inférieure), le 2 novembre 1904.

Examinateurs de la Thèse

MM. MURATET, professeur ..... *Président.*
DUVERGEY, professeur .....
AUBERTIN, agrégé..... *Juges.*
DE GRAILLY, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR
6, Place Saint-Christoly

1934

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, AUCHÉ, SELLIER, BEILLE, CASSAËT

PROFESSEURS

	MM.		MM
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	N.
Clinique chirurgicale	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES.
id.	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales	CARLES.	Clinique gynécologique	GUYOT.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale	DELAUNAY.
Anatomie	VILLEMIN.	Physique médicale et pharmaceutique	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Physiologie	PACHON	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	DUPOUY.	Clinique dentaire	CAVALIÉ.

MM MICHELEAU (Médecine générale). MURATET (Anatomie pathologique). LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUBECQ.	Chirurgie générale	CHARRIER.
id.	DUFOUR.	id.	LOUBAT.
Physiologie	FABRE.	Obstétrique	RIVIÈRE.
Médecine générale	AUBERTIN.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX.
id.	DAMADE.	Physique médicale	WANGERMEZ.
id.	PIÉCHAUD.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.	DELMAS-MARSALET.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	DE GRAILLY.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	VITTE.
id.	FONTAN.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM
Médecine opératoire	PAPIN.	Puériculture	FAUGÈRE.
Physiologie	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac.	N.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Accouchements	RIVIÈRE.		

Ophtalmologie	MM.	CABANNES (en congé).
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.		N.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle		GOURDON.
id. Clinique dentaire		DELGUEL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES GRANDS-PARENTS

A MA MERE

Bien faible témoignage de ma profonde affection.

A MON PERE

A MA FEMME

A MA FILLE

A MES CAMARADES DE L'INTERNAT

MEIS ET AMICIS

A MES MAITRES DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX

PHARMACIE

Monsieur le Professeur CHELLE
Monsieur le Professeur LABAT
Monsieur le Professeur GOLSE
Monsieur le Professeur VERGER (*in memorian*)

MÉDECINE

Monsieur le Professeur BÉGOUIN
Monsieur le Professeur TEULIERES
Monsieur le Professeur CARLES
Monsieur le Professsseur agrégé DUFOUR
Monsieur le Professeur agrégé AUBERTIN
Monsieur le Docteur RABERE
Monsieur le Docteur BOUSQUET

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur MURATET

Professeur à la Faculté de Médecine,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

Mon cher Maître,

Vous avez bien voulu me donner le sujet de cette thèse, contribuer à mes recherches et les diriger. Vous me faites aujourd'hui le grand honneur de bien vouloir la présider. Soyez assuré que j'en sens tout le prix. Durant les quatre années passées à votre laboratoire, vous m'avez maintes fois guidé et éclairé de votre haute science. Qu'il me soit donc permis de vous assurer, en ce jour, de mon attachement respectueux et indéfectible.

AVANT-PROPOS

On ne fait pas dix ans d'études pharmaceutiques et médicales sans contracter une dette de lourde reconnaissance envers les différents maîtres qui nous ont guidé. Je veux leur témoigner, ici, ma vive gratitude.

M. R. Péry, docteur en pharmacie, praticien de la vieille école, fut mon premier Maître. Conscient de son devoir professionnel, il sut m'initier à la pharmacie telle qu'elle doit être pratiquée. L'année de stage passée à son Officine sera toujours pour moi un excellent souvenir.

C'est dans le laboratoire des Professeurs Chelle et Labat que je pris le premier contact avec la chimie biologique. Un jour, je réussis, par hasard, une réaction un peu délicate. Le Professeur Chelle me fit alors travailler sous sa surveillance. Désormais, je devais bénéficier de son enseignement, de ses conseils et de ses tours de pratique. J'appris également que, sous un aspect rude, il cachait une bonté qui n'a d'égale que sa droiture. Qu'il soit assuré de mon profond attachement.

Le Professeur Labat m'éclaira souvent de sa science. J'ai toujours admiré son esprit précis, sa méthode; et je n'oublierai pas les bonnes heures passées, seul avec lui, durant les mois dits de vacances. Qu'il soit assuré de toute ma reconnaissance.

Egalement, je veux remercier Mlle Bègue, chef des travaux pratiques, qui dirigea ma préparation à l'internat, et le Professeur Vitte, qui me fit souvent bénéficier de son amitié.

Deux années d'internat, passées au Laboratoire central de l'Hôpital Saint-André, m'ont également fait connaître le

Professeur Golse. Je le remercie de la sympathie qu'il m'a témoignée. Souvent une phrase bienveillante de sa part contre-balançait une série fastidieuse d'analyses.

C'est au cours de ma dernière année d'internat en pharmacie que j'ai pu apprécier la bonté et la grandeur d'âme du Professeur Verger. J'ai eu l'honneur de collaborer à l'installation de son nouveau laboratoire de clinique médicale. Ravi trop brutalement à l'affection des siens et de tous ses élèves, qu'il me soit permis de déposer, ici, un pieux hommage à sa mémoire.

Je remercie M. le Professeur Aubertin de la sollicitude qu'il m'a témoignée durant mon séjour au laboratoire du Professeur Verger.

Orienté vers la biologie, mes études médicales furent un peu sans histoire. Je n'oublie cependant pas mon ami, le Professeur agrégé Dufour, qui, étant chef de clinique chirurgicale, m'a préparé à l'externat. Qu'il soit assuré que les bonnes années passées ensemble à l'hôpital Saint-André seront toujours pour moi un agréable souvenir.

Externe du Professeur Bégouin, j'ai pu admirer son habileté opératoire et ses grandes qualités d'enseignement. En une phrase lapidaire, il avait l'art de résumer, par quelques mots précis, les grands symptômes de la pathologie chirurgicale. En maintes circonstances, il m'a témoigné son estime. Je l'en remercie respectueusement.

Je sais gré au Docteur Hude, radiographe à Saintes, d'avoir bien voulu irradier mes premiers animaux, et au Docteur Servantie, chef de laboratoire à l'Hôpital Saint-André, de m'avoir procuré du matériel pour ce travail. Qu'ils soient assurés de mes remerciements et de mon amitié.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

DE LA TUBERCULOSE URINAIRE

ET PLUS PARTICULIÈREMENT

PAR LE PROCÉDÉ DE JOHN J. MORTON

(Inoculation au cobaye irradié)

INTRODUCTION

De tout temps, les cliniciens ont cherché à porter le plus rapidement possible un diagnostic précis.

Dans la tuberculose urinaire, autrefois établi par le seul examen du malade, il est toujours accompagné aujourd'hui du diagnostic biologique.

Ici, le laboratoire est un précieux auxiliaire de la clinique, et nous pouvons dire qu'avant tout traitement médical, et à plus forte raison chirurgical, le médecin demandera au biologiste de lui dire s'il s'agit bien d'une affection tuberculeuse.

Ce diagnostic biologique ne peut être porté que si on met en évidence, d'une façon certaine, par quelque procédé que ce soit, le facteur spécifique de la maladie : *le Bacille de Koch*.

Si le diagnostic de tuberculose urinaire ne peut être établi que lorsque le laboratoire trouve du bacille de Koch dans

les urines, il ne faut pas se hâter et dire que la présence de ce bacille est une preuve certaine de tuberculose urinaire.

Nous verrons, en effet, que certains bacillaires éliminent dans leurs urines le germe de la tuberculose sans que celui-ci ait déterminé des lésions de l'arbre urinaire.

Cliniciens et biologistes doivent donc s'unir, et nous dirons que le diagnostic certain de tuberculose urinaire doit comporter des signes cliniques confirmés par les données du Laboratoire.

GÉNÉRALITÉS

La recherche du bacille de Koch dans l'urine des malades comporte, en pratique, un certain nombre de difficultés inhérentes à des facteurs divers :

1° L'urine a été prélevée sans aucun soin et l'échantillon apporté au Laboratoire provient d'une récolte des urines de vingt-quatre heures, en vase ouvert;

2° Le malade présente une infection secondaire déterminant une pyurie telle que la masse du dépôt gêne considérablement la mise en évidence du bacille de Koch;

3° Les bacilles de Koch peuvent être éliminés en très petite quantité, d'où nécessité de recherches longues et minutieuses;

4° Enfin l'élimination du bacille tuberculeux n'est pas constante. Elle se fait par décharges plus ou moins abondantes, à intervalles plus ou moins éloignés.

C'est en considération de ces difficultés que, sur les conseils de notre Maître, le Professeur Muratet, nous avons choisi, comme sujet de notre travail inaugural, l'étude des divers procédés pouvant être employés pour déceler le bacille tuberculeux dans les urines et, plus particulièrement, l'étude de la méthode publiée par John Morton M. D., le 1er octobre 1916, in *The Journal of Experimental Medecine*. Notre travail a été fait sous la direction et avec la collaboration de M. Muratet.

Nous avons pensé qu'il pouvait être utile au biologiste en lui rappelant quelques moyens de parer aux difficultés mentionnées plus haut et en lui permettant de hâter la remise, au médecin traitant, d'un résultat plus rapide, ce qui ne manque pas d'intérêt pour le malade lui-même et aussi pour son entourage, soumis, à chaque instant, aux risques de la contagion.

Notre plan sera le suivant :

Première partie. — Revue des divers procédés employés dans les laboratoires :

I. Examen direct. Technique stricte à suivre.
II. Différents procédés d'inoculation aux animaux de laboratoire.
III. Cultures et microcultures.
IV. Réactions biologiques permettant de dépister la tuberculose en général; leurs applications au diagnostic précoce de la tuberculose chez les animaux inoculés.

Deuxième partie. — Résumé de la technique préconisée par John Morton.

Troisième partie. — Exposé de nos essais, malheureusement en petit nombre, portant sur le procédé de John Morton.

Certes, nous ne nous dissimulons pas l'insuffisance de nos recherches et leurs lacunes. Nous savons que nos expériences ne comportent pas toute la rigueur expérimentale voulue et aussi qu'elles ne sont pas en nombre suffisant. Cependant, tel qu'il est, notre travail jalonne le terrain et ouvre le champ à une expérimentation beaucoup plus vaste, mieux et plus scientifiquement conduite.

Chemin faisant, nous avons glané quelques indications intéressantes, que d'autres, mieux outillés, disposant de plus de temps que nous n'en avions, pourront essayer de tirer au clair. N'y aurait-il que les questions des tuberculoses rénales à ultra-virus, des cultures du bacille tuberculeux d'origine rénale, pour la détermination des différents types de bacilles, que le domaine de l'expérimentation n'est pas encore près d'être entièrement parcouru.

PREMIÈRE PARTIE

REVUE DES DIVERS PROCÉDÉS EMPLOYÉS

CHAPITRE PREMIER

EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT — BACILLOSCOPIE

Cette méthode est évidemment la première en date ; elle est la plus simple, la plus rapide. Quelle est sa valeur ? Comment la pratiquer ? Quelles sont les modifications à lui apporter, les critiques qu'elle soulève ?

Dans une urine, le bacille de Koch sera d'autant plus facile à trouver à l'examen direct que, sous un même volume, il sera plus abondant et moins associé à d'autres éléments dont la seule présence peut ou le dissimuler ou tout au moins gêner l'observateur dans sa recherche.

La richesse en bacilles de Koch d'une urine émise par un malade est fonction de la lésion qu'il présente. Celle-ci est plus ou moins ouverte dans l'arbre urinaire; elle laisse échapper plus ou moins de bacilles, et ceci d'une façon le plus souvent intermittente. Si ces facteurs ne peuvent pas être modifiés par le biologiste, s'il est obligé de les subir, il doit néanmoins les connaître et en faire son profit. En raison des décharges intermittentes, un premier examen négatif sera suivi de plusieurs autres examens chez tout malade cliniquement suspect. D'autre part, la centrifugation

nous permet d'augmenter artificiellement la richesse microbienne. Nos recherches porteront donc sur un volume d'urine le plus grand possible, préalablement centrifugé à grande vitesse (4.000 tours environ pendant vingt minutes).

Reste la question des éléments surajoutés (cristaux, bactéries, cellules). Nous pouvons éliminer beaucoup de souillures en recueillant les urines à la sonde, tout aussi bien chez l'homme que chez la femme. Ceci doit être une règle absolue : *La recherche du bacille de Koch sera effectuée sur des urines recueillies aseptiquement*, et principalement sur la fin de la miction quand le malade n'a pas été sondé. Nous croyons qu'il n'y a pas avantage à les recueillir à un moment donné, le matin au réveil par exemple, car ces malades sont le plus souvent atteints de cystite et leur contenu vésical, généralement peu abondant, est fréquemment renouvelé (ceci, bien entendu, pour les urines prises dans la vessie et non par cathétérisme des uretères). On doit toujours examiner l'urine au point de vue cytologique, rechercher les globules rouges et déterminer la nature des autres éléments cellulaires.

Vient ensuite la recherche du bacille de Koch, qui peut être seul, mais qui, le plus souvent, est associé à d'autres bactéries. Il y a intérêt à savoir quelles sont ces bactéries associées, et l'examen de l'urine devra les mentionner.

Si notre premier examen direct d'une partie du culot de centrifugation, colorée par la méthode de Ziehl-Nelsen, est négatif, nous pourrons avoir recours à la méthode dite d'enrichissement d'Ellermann-Erlandsen. Voici quelle est cette technique :

a) Diluer le reste du culot de centrifugation dans 5 cm^3 d'une solution de carbonate de soude à 1/400. Boucher au liège, placer vingt-quatre heures à l'étuve à 37 degrés.

b) Centrifuger vingt minutes, décanter, diluer le culot dans 4 à 5 cm^3 de soude caustique à 1/400.

c) Mettre cinq minutes au bain-marie bouillant, puis centrifuger comme précédemment.

d) Décanter la liqueur alcaline, renverser le tube et prélever le culot, à peine apparent, en raclant le fond du tube avec l'extrémité effilée d'une pipette capillaire à section perpendiculaire nette.

e) Déposer sur une lame, ne pas étaler, fixer et colorer après dessiccation.

Le bacille de Koch se montre ainsi, soit isolé, soit en amas, coloré en rouge; les bactéries associées sont colorées en bleu.

Les autres éléments figurés surajoutés ont ainsi été éliminés.

Critiques de la méthode. — Tout bacille acido et alcoolo-résistant rencontré est-il bien un bacille tuberculeux vrai, bacille pathogène pour l'homme ?

Il est impossible de se mettre complètement à l'abri d'erreurs provenant du fait que certains bacilles acido et alcoolo-résistants se rencontrent communément dans les urines.

Le plus banal est celui du smegma, signalé, dès 1884, par Lustgarten et bien étudié depuis. Grünbaum, cité par Calmette, l'a trouvé dans 59 p. 100 des urines normales de la femme, alors qu'il est relativement plus rare chez l'homme. Il en existe deux variétés, l'une grêle et fine, ressemblant beaucoup au bacille tuberculeux, l'autre granuleuse, se présentant le plus souvent en amas ou en bâtonnets parallèles. tout comme le bacille diphtérique.

Mais il semble que l'on puisse le différencier du vrai bacille tuberculeux en suivant la technique indiquée par Bezançon et Philibert :

Prolonger pendant deux minutes l'action de l'acide azotique au 1/3 sur les lames colorées à chaud par la fuchsine phéniquée de Ziehl, et, pendant cinq minutes, celle de l'alcool absolu.

L'on peut encore employer ici la méthode de coloration de G. Denigès. Décoloration en un temps en plongeant la lame dans une cuve remplie d'alcool à 90-96 degrés additionné de 1 p. 100 d'HCl pur et concentré. Cette décoloration

peut être prolongée plusieurs heures (même une nuit) sans qu'il y ait décoloration du bacille de Koch. Par ces deux procédés, les bacilles du smegma sont décolorés alors que les bacilles tuberculeux gardent la teinte rouge de la fuchsine.

Tout bacille de Koch ainsi rencontré est-il pathogène ?

Connaissant la susceptibilité de certains animaux, cobayes et lapins par exemple, à l'égard du bacille de Koch, les expérimentateurs ont été amenés à injecter aux animaux les produits suspects. Nous verrons tout à l'heure les techniques employées.

La présence de bacilles de Koch, même virulents, constatée dans une urine est-elle toujours un signe de tuberculose des voies urinaires ? Non, car on sait bien, à l'heure actuelle, que tout tuberculeux peut éliminer des bacilles tuberculeux par l'urine sans présenter de lésions rénales tuberculeuses.

Les bacilles éliminés peuvent être si peu abondants que, malgré toutes les précautions prises et les recherches les plus longues et les plus minutieuses, l'examen direct ne peut arriver à les révéler.

Nous nous trouvons ici en face du grand argument à l'encontre de la méthode et nous sommes conduit naturellement au deuxième mode de recherche : *recherche du bacille de Koch par inoculation.*

CHAPITRE II

INOCULATION A DES ANIMAUX DE LABORATOIRE

Employée pour la première fois par Marcet, en 1867, elle s'est très rapidement répandue, et pendant longtemps elle fut considérée comme la méthode de choix, comme celle qui doit trancher en dernier ressort. Elle consiste à reproduire expérimentalement chez l'animal la maladie soupçonnée. Il faut donc choisir un animal susceptible de réagir à l'apport extérieur et voulu de bacilles de Koch par des lésions tuberculeuses qu'il nous sera possible de mettre en évidence d'une façon certaine dans l'état actuel de nos connaissances.

De plus, il faut que l'animal employé soit antérieurement indemne de tuberculose et qu'il ne soit pas susceptible de la contracter spontanément dans le courant de l'infection artificielle que nous créons chez lui et que nous étudions.

Tous les animaux ne sont pas également sensibles à la tuberculose; et, bien plus, tel animal sensible au bacille humain le sera moins ou plus au bacille bovin, aviaire ou pisciaire.

Quelles sont chez l'homme les variétés de bacilles que l'on rencontre au cours des infections tuberculeuses des voies urinaires ? Nous rapporterons ici la statistique de W. Park et Krumwiede, portant sur 1.224 cas de tuberculose générale recueillis en Allemagne, Danemark, Suède et aux Etats-Unis, différenciant les cas à bacilles humain et bovin :

Adultes de plus de 16 ans :

Cas à bacilles humains, 777;
Cas à bacilles bovins, 10.

Enfants de 5 à 16 ans :

Cas à bacilles humains, 117;
Cas à bacilles bovins, 36.

Enfants de moins de 5 ans :

Cas à bacilles humains, 215;
Cas à bacilles bovins, 65.

Sur l'ensemble :

Cas à bacilles humains et bovin, 4.

Soit :

Cas à bacilles humains, 1.109;
Cas à bacilles bovins, 111;
Cas à bacilles humains et bovins, 4.

Au total : 1.224.

En ce qui concerne la forme de tuberculose qui nous occupe ici, cette statistique montre, sur 19 cas étudiés, 1 cas de tuberculose à bacilles bovins chez un sujet de plus de 16 ans et 18 cas à bacilles humains.

Il faut remarquer qu'elle porte sur un petit nombre de cas de tuberculose génito-urinaire, et peut-être serait-il imprudent de se hâter de conclure que 11,11 p. 100 sont dus à des bacilles bovins, la tuberculose urinaire se rencontrant surtout entre 14 et 35 ans (Jeanbrau).

Aussi croyons-nous qu'il est plus prudent de raisonner sur les 787 cas étudiés chez des sujets de plus de 16 ans. Sur ces 787 cas, W. Park et Krumwiede en ont trouvé 10 à bacilles bovins, soit environ 1,28 p. 100. Aussi est-ce ce chiffre approximatif que nous retiendrons.

La tuberculose urinaire à bacille aviaire n'avait pas encore été signalée.

Choix de l'animal d'expérience.

Le cobaye et le singe sont, de tous les animaux habituellement employés dans les laboratoires, les plus sensibles à l'infection tuberculeuse, surtout lorsqu'on expérimente avec des bacilles humains. Le lapin, plus résistant au bacille humain, est très sensible au bacille bovin. Un dixième de milligramme de culture de bacilles bovins (pesés à l'état frais) suffit généralement à le tuer en moins de deux mois alors qu'il résiste le plus souvent à l'infection de dix milligrammes de bacilles humains (Calmette).

Le chien, le rat, la souris, sont difficilement tuberculisables. D'autre part, l'on a cru pendant longtemps que le cobaye et le lapin ne prennent presque jamais spontanément la tuberculose, et Calmette écrivait en 1922 que, dans les élevages, même effectués dans les locaux dépendant des laboratoires, il est exceptionnel de trouver un de ces animaux contaminé, de même que par simple cohabitation dans les cages ou dans des parcs avec des animaux artificiellement tuberculisés. Cette immunité apparente vis-à-vis de la contamination naturelle résulte sans doute de ce que les déjections solides des cobayes ne souillent pas leur nourriture et que cette dernière, exclusivement composée de racines fourragères, de pain et de son, ne peut pas être pour eux une source d'infection.

Pour le lapin, il en est de même. Nous verrons tout à l'heure ce qu'il y a lieu d'en penser.

Sensibilité et non-tuberculisation accidentelle fréquente ont donc fait du cobaye l'animal de choix pour l'étude de la tuberculose expérimentale.

Différents modes d'inoculation expérimentale du cobaye et du lapin.

Nous pouvons les résumer ainsi :

Inoculation par voie sous-cutanée;
Inoculation par voie intrapéritonéale;
Inoculation par voie intravasculaire ou intracardiaque ;
Inoculation par voie intracranienne ou intrarachidienne;
Inoculation par voie oculaire;
Inoculation par voie intramammaire;
Inoculation directement dans la vésicule biliaire, dans une anse intestinale, dans la plèvre ou à l'intérieur même d'une articulation.

La méthode la plus communément employée est l'inoculation par voie sous-cutanée. Sous la peau de la cuisse ou de l'abdomen, préalablement rasée et rendue aseptique par badigeonnage à la teinture d'iode, on introduit, à l'aide d'une seringue ou d'une pipette de verre, le culot de centrifugation obtenu par la méthode précédemment décrite, lors de la recherche par l'examen direct.

Nous emprunterons au livre de Calmette les lignes suivantes, qui décrivent si magistralement les lésions observées :

« Les résultats immédiats sont absolument nuls. Bientôt apparaît une légère inflammation locale avec un peu d'œdème. Ce n'est qu'après six ou dix jours qu'en palpant la région on perçoit dans l'aine correspondante, au point inoculé, un ganglion augmenté de volume, dur, roulant sous les doigts comme un corps étranger. Ce ganglion, d'abord gros comme un grain de chènevis, ne tarde pas à s'accroître jusqu'à la dimension d'une petite noisette. L'animal reste pourtant bien portant en apparence; il peut même augmenter de poids. Puis, vers la troisième ou quatrième semaine, il commence à maigrir, le poil perd de son brillant et se hérisse, les côtes

deviennent apparentes, les flancs se creusent, la respiration s'accélère. La température, qui, chez le cobaye, oscille naturellement entre 38 et 39 degrés, s'élève constamment au-dessus de 39°5. La maigreur devient de plus en plus prononcée, et généralement vers la huitième ou dixième semaine, parfois même un peu plus tôt ou un peu plus tard, suivant la dose de virus inoculé, la mort succède à un état de cachexie profonde.

» L'autopsie montre alors toute la série des lésions, assez variables d'ailleurs, qui caractérisent la tuberculose généralisée. Le ganglion initial, énorme, est entouré de tissu œdémateux. A la coupe, on le trouve rempli de pus crémeux, épais comme du fromage, bien lié et inodore. La cavité abdominale renferme une quantité anormale de liquide. Le foie, qui peut être doublé de volume, présente des bosselures et de multiples masses arrondies ou irrégulières, d'un blanc jaunâtre, dont plusieurs contiennent du pus. La rate, six ou huit fois plus grosse qu'à l'état normal, souvent davantage, ressemble à une mosaïque de grains jaunâtres dont les dimensions varient d'une tête d'épingle à une lentille et qui contiennent du pus caséeux. Les reins paraissent décolorés, les capsules surrénales, énormes, ont une couleur bleuâtre, nacrée. L'ouverture de la cavité thoracique laisse voir sur les deux poumons un semis de tubercules disséminés partout, mais généralement plus abondants aux lobes postérieurs. Les tubercules sont, les uns très petits, grisâtres, d'autres gros comme une tête d'épingle avec un point blanc au centre et une zone transparente, hyaline à la périphérie.

» Les parties voisines du tissu pulmonaire sont partiellement hépatisées, rouges. Les ganglions trachéo-bronchiques conglomérés forment un amas volumineux, enserrant la trachée au niveau de la ramification des bronches. Leur centre est ramolli, caséeux. On trouve enfin, parfois, d'autres ganglions plus petits, mais également caséeux, de chaque côté du sternum sur la paroi diaphragmatique.

» Au microscope, après coloration par le Ziehl, le contenu

de toutes ces lésions montre en abondance des bacilles tuberculeux, les uns libres, les autres englobés dans des cellules lymphatiques. »

L'évolution de ces lésions ainsi décrites est sous la dépendance de nombreux facteurs.

a) *Nombre de bacilles inoculés.*

Tout d'abord du nombre des germes inoculés. Avec des cultures très virulentes, Calmette dit qu'il faut de 15 à 50 bacilles pour réaliser, en une injection, l'infection par voie sous-cutanée d'un cobaye de 250 grammes environ. I. Toeny et A. C. Thayssen ont constaté que les cobayes ne prennent pas la tuberculose lorsqu'on leur injecte quelques éléments microbiens isolés. Sur 13 cobayes qui ont reçu de 10 à 76 bacilles, un seul (inoculé avec 71 bacilles) fut trouvé porteur d'une lésion tuberculeuse.

D'où il résulte que si l'inoculation n'est pas faite avec un culot riche en bacilles, il peut fort bien y avoir, ainsi que le signalent A. Ranque et Ch. Senez, arrêt de l'infection au niveau du filtre ganglionnaire, celui-ci présentant des lésions de mortification notable, mais sans généralisation de l'infection et l'animal guérissant; ou une simple hypertrophie ganglionnaire avec sclérose consécutive. Enfin il est permis de supposer une absence complète de lésions, les bacilles étant immédiatement phagocytés ou s'arrêtant au niveau du ganglion sans même y provoquer la moindre réaction. E. Aubertin et F. Fontan ont préconisé un procédé, dérivé du principe du milieu de Pétroff, permettant de supprimer les microbes associés dans les produits bacillifères à injecter, sans nuire, au moins pratiquement, à la vitalité et à la virulence des bacilles de Koch. C'est là un avantage, surtout quand il s'agit d'une urine. Mais les auteurs en signalent d'autres. « Tout d'abord, disent-ils, cette méthode, utilisant le culot d'homogénéisation du produit pathologique à injecter et non pas le produit lui-même, beaucoup plus toxique, permet

d'inoculer à l'animal un bien plus grand nombre de bacilles de Koch. Or, si l'on songe que l'inoculation au cobaye est appelée à rendre des services, surtout lorsqu'il s'agit de milieux très pauvres en bacilles que des examens plus simples ou plus rapides ne peuvent déceler, on comprend qu'il puisse y avoir intérêt à utiliser la plus grande quantité possible des produits pathologiques dont il s'agit de connaître la nature. Et cela d'autant plus que, comme nous avons eu maintes fois l'occasion de nous en rendre compte au cours de nos recherches sur ce sujet, ce qui importe, pour obtenir les renseignements les plus sûrs et les plus rapides, ce n'est pas tant la voie d'inoculation que l'on emploie (ce qui a cependant son importance aussi) que le nombre surtout de bacilles de Koch que l'on injecte. »

Voici, très minutieusement indiquée, la technique réglée par ces auteurs :

» Prendre une quantité donnée de produits pathologiques à injecter; l'additionner de deux fois son volume de solution stérile de soude pure à 4 p. 100 dans l'eau distillée (si on a affaire à des produits très visqueux, rien n'empêche d'augmenter la quantité de soude à 4 p. 100 pour obtenir une simili-homogénéisation). Agiter vigoureusement et porter à l'étuve à 37 degrés pendant vingt à trente minutes. Au bout de ce temps, verser quelques gouttes d'une solution alcoolique à 5 p. 100 de phénol-phtaléine : le milieu devient rouge; on fait disparaître cette coloration en ajoutant, goutte à goutte, la quantité suffisante d'acide chlorhydrique à 10 p. 100. Le liquide ainsi neutralisé est ensuite additionné d'une solution à 1 p. 100 dans l'alcool ou l'eau distillée de violet de gentiane, en quantité telle que l'ensemble du mélange contienne environ 1 p. 5.000 de ce principe colorant. Répartir alors dans des tubes à centrifuger. Centrifuger pendant quinze minutes, décanter, puis diluer le culot dans un peu de sérum physiologique stérilisé et injecter la dilution à l'animal. Il est bon, pour éviter toute cause d'erreur, d'employer de la verrerie stérilisée, surtout dans un laboratoire où l'on manie beaucoup

de produits bacillifères. Mais ceci n'est nullement utile pour éviter l'infection secondaire, le violet de gentiane suffisant à lui seul à cet effet, même après neutralisation de la soude. »

Les auteurs concluent que, sauf pour les matières fécales, où la méthode est inconstante, leur procédé permet dans tous les cas de réaliser des inoculations, au moins intra-abdominales, de divers produits septiques. Il pourra donc être très avantageusement employé et pour l'inoculation au cobaye et pour la culture des produits urinaires suspects.

b) *Virulence des bacilles inoculés.*

Il faut tenir compte de la virulence du germe inoculé. Ce facteur n'est pas sous notre dépendance et nous sommes obligés de le subir.

Cependant, A. Boquet et L. Nègre ont montré que les injections sous-cutanées d'extrait acétonique de bacilles de Koch favorisent le développement des lésions tuberculeuses chez les cobayes préalablement inoculés avec les éléments filtrables du virus tuberculeux ou avec quelques bacilles tuberculeux seulement.

A la suite de ces résultats, ils ont pensé que les injections sous-cutanées d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux, à raison de deux ou trois par semaine, pourraient être utilisées avec profit pour faciliter la mise en évidence du virus tuberculeux dans des produits pathologiques suspects de tuberculose, soit parce que les bacilles de Koch y sont très rares, soit parce qu'il est constitué par des éléments filtrables. Il est facile de constater cette action de la façon suivante : des lapins ayant reçu dans la veine 0 mg. 0001 de bacilles bovins virulents et des cobayes inoculés sous la peau avec 0 mg. 001 des mêmes bacilles sont traités, huit jours après cette inoculation, par des injections sous-cutanées bihebdomadaires de 1 cm^3 d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux en suspension aqueuse (1 cm^3 correspondant à 1 centigramme de bacilles pesés à l'état sec).

Lorsque ces injections ont été poursuivies pendant quelques semaines, on constate que les animaux traités maigrissent plus rapidement que les témoins et meurent plus précocement qu'eux avec des lésions beaucoup plus disséminées et étendues.

Les auteurs se sont rendu compte que les injections sous-cutanées d'extrait acétonique faites à des cobayes sains ne peuvent pas provoquer à ces animaux des lésions tuberculeuses. Cependant, on devra procéder aux injections d'extrait acétonique avec des aiguilles et des seringues spéciales n'ayant pas servi à des injections de produits pathologiques suspects, et ceci en raison de la sensibilité de la méthode. Est-ce la virulence du bacille qui est accrue ou la résistance du récepteur qui est diminuée? Peut-être ni virulence ni résistance ne sont modifiés.

c) *Sensibilité du récepteur.*

De même intervient la sensibilité de l'animal récepteur, sensibilité qui est variable suivant l'espèce. Nous avons vu que le cobaye est plus sensible au bacille humain qu'au bacille bovin. Par contre, le lapin est plus sensible au bacille bovin qu'au bacille humain. D'où nécessité, si l'on veut ne pas laisser passer une tuberculose bovine, d'inoculer et un cobaye et un lapin.

d) *Temps.*

Enfin ce procédé est long, en moyenne de huit à dix semaines, parfois des mois, temps pendant lequel les lésions continuent à évoluer chez le malade. Or nous savons que les suites opératoires, sans parler de bilatéralité possible, sont d'autant meilleures que la maladie est à son début. Si on laisse des adhérences se former, on risque soit une ou des fistules parfois fort longues à se fermer, soit une dissémination des bacilles de Koch postopératoire, et une méningite bacillaire peut venir compliquer une néphrectomie, qui, pourtant, semblait aller au mieux.

C'est justement contre ce facteur « *temps* » que nous avons essayé de lutter. Calmette signale bien la technique de Nattan-Larrier, qui consiste à injecter le produit suspect à la base de la mamelle, dans le tissu glandulaire d'un cobaye femelle en lactation. Il se produit une pullulation des bacilles qu'on retrouve en abondance dans le lait et un engorgement intense des ganglions lymphatiques supra ou rétro-mammaires. Malheureusement on n'a pas toujours à sa disposition une cobaye femelle en lactation.

On a longtemps pensé, et Calmette l'a même écrit dans son livre si fréquemment cité, que les cobayes et les lapins ne deviennent pas spontanément tuberculeux ou le deviennent très rarement.

Que faut-il en penser ? Tout dernièrement, Calmette (modifiant son opinion première) dit : « L'infection spontanée du cobaye et du lapin est *fréquente* tant dans les élevages que dans les cages de laboratoire.

Il est vrai que les formes de la maladie sont très différentes de celles qui suivent les inoculations; elles ressemblent à celles que l'on observe dans l'espèce humaine, surtout chez l'enfant. » Ce sont toujours des formes pulmonaires, souvent avec cavernes, ganglions hilaires volumineux, scléreux et caséeux, lésions discrètes des ganglions mésentériques, du foie, des reins et des ganglions sous-lombaires, rarement de la rate. Si la contamination est si fréquente dans les étables ou dans les cages du laboratoire, c'est que les précautions prises sont insuffisantes. Il faut non seulement que les cages des animaux infectés soient placées à distance et toujours au-dessous de celles des animaux sains, mais aussi que l'alimentation ne puisse être souillée par des expectorations bacillifères et que le personnel qui soigne les animaux soit indemne de lésions tuberculeuses cliniquement, radiologiquement et bactériologiquement. De plus, C. Muni et J. Bretey démontrent que toute plaie récente de la peau peut être la source d'une infection tuberculeuse chez les cobayes normaux vivant en milieu infecté. Particulièrement redoutables sont

les ponctions cardiaques faites dans des conditions de stérilité insuffisante (3 cobayes infectés sur 11). Certaines de ces tuberculoses pourraient être considérées comme spontanées du fait de la lenteur de leur évolution. D'autres, plus fréquentes, peuvent passer complètement inaperçues par suite de la contamination par le bacille aviaire, plus résistant que les autres types bacillaires. Celles-ci ne peuvent être mises en évidence que par la culture des organes.

Si ces affections spontanées ont été presque toujours insoupçonnées, c'est parce que, chez les rongeurs de laboratoire et chez les autres espèces animales (sensibles comme dans l'espèce humaine), elles ne manifestent leurs effets qu'après un délai beaucoup plus long que ne le comporte d'ordinaire la conservation des animaux inoculés, et qu'elles peuvent également, comme dans l'espèce humaine, déterminer soit des formes de tuberculose évolutive, soit des états d'allergie générateurs d'immunité ou de résistance aux surinfections.

Tout cela nous explique que, lorsque des cobayes ou des lapins neufs sont placés dans une même cage, en contact avec un animal atteint de tuberculose ouverte ou fermée, les uns s'immunisent, tandis que d'autres s'infectent plus ou moins gravement. C'est exactement ce qui s'observe dans la contagion familiale, qui frappe certains membres de la famille d'un tuberculeux, alors que d'autres, qui ont eu le temps de s'immuniser, restent indéfiniment indemnes.

Nous voyons donc que ce procédé de choix laisse lui aussi à désirer.

Et, de l'inoculation, l'on a été amené à étudier la culture du bacille de Koch dans les urines; procédé meilleur, puisque, en théorie du moins, il suffit d'un seul bacille pour permettre un diagnostic de présence.

CHAPITRE III

CULTURE ET MICROCULTURE

Il fut un temps, encore rapproché, où l'on pensait que la culture du bacille de Koch ne pouvait être réalisée qu'après une inoculation au cobaye. L'animal était sacrifié après trois ou quatre semaines, on prélevait aseptiquement des portions franchement tuberculeuses de foie ou de rate, on les broyait dans un vase stérile et on ensemençait largement une dizaine ou une quinzaine de tubes de sérum glycériné ou de sang gélosé en ayant soin de dilacérer un peu le milieu de culture avec la spatule, de façon à lui incorporer la semence. Après deux ou trois semaines, les cultures obtenues étaient repiquées sur le même milieu. Par la suite, le bacille, mieux acclimaté aux milieux artificiels, se développait bien sur différents milieux, et notamment sur pomme de terre glycérinée, sur milieux à base d'œuf.

Actuellement, on réussit la culture en partant du produit septique lui-même, en employant des milieux spéciaux. On a proposé, et on propose encore chaque jour, des formules de ces milieux, ce qui prouve bien qu'on n'est pas encore en possession d'une formule idéale. Parmi les plus employées sont celles de Lœwenstein. Elles sont au nombre de quatre. Nous donnons seulement la formule de Lœwenstein n° 2, qui, pour certains, est la meilleure.

Préparation du milieu de culture de Lœwenstein n° 2 (traduction du texte allemand due à l'obligeance de M. le Docteur Le Chuitton, professeur de l'Ecole de Santé navale).

1° *Nettoyage des œufs.* — On plonge 5 œufs crus bien frais, de grosseur moyenne, dans une solution tiède de savon de soude à 5 p. 100; on les lave ensuite à l'eau chaude. Puis on les plonge dans une solution de sublimé à 1/1.000 et on les y laisse vingt-quatre minutes. On les relave à l'eau chaude, puis à l'alcool.

2° *Préparation de la solution suivante :*

Phosphate monocalcique	1 g.
Citrate de soude	1 g.
Asparagine	3 g.
Sulfate de magnésie	1 g.
Glycérine à 30 degrés neutre	60 g.
Eau distillée	1.000 g.

A 150 ou 160 cm³ de cette solution asparaginée, on ajoute :

6 grammes de farine de pomme de terre;
12 cm³ de glycérine à 30 p. 100 neutre.

On cuit le tout pendant un quart d'heure à 100 degrés en remuant fréquemment et on laisse reposer pendant une heure à 56 degrés.

A ce mélange maintenu à 56 degrés, on ajoute 4 des œufs préparés comme il est dit ci-dessus; du 5e œuf on n'utilisera que le jaune, puis 5 cm³ d'une solution stérile de vert malachite à 2 p. 100. Pendant ce temps de préparation, on agite continuellement le mélange en s'aidant de perles de verre. On filtre sur gaze stérile et on répartit le tout en tubes à raison de 5 cm³ par tube.

Ces tubes sont disposés en plan incliné dans l'étuve à coaguler le sérum et stérilisés à 85 degrés pendant deux heures, deux fois à un jour d'intervalle. Le contrôle de la stérilisation se fera en plaçant les tubes à l'étuve à 37 degrés pendant quarante-huit heures.

Pour ensemencer, bien frotter le produit d'ensemencement sur le milieu pour l'y faire pénétrer, puis boucher les tubes au coton paraffiné et avec un bouchon de caoutchouc ou à la cire Golaz.

Si le prélèvement n'a pas été fait avec des précautions d'asepsie suffisamment rigoureuses, ou si l'on redoute une contamination microbienne, ce qui est le cas pour les urines, on peut reprendre le culot de centrifugation par son volume d'une solution sulfurique à 15 p. 100. On laisse en contact trois minutes, puis on ajoute de l'eau distillée stérile (50 à 60 cm^3), on centrifuge et on lave le culot deux ou trois fois à l'eau distillée. Après la dernière centrifugation, le culot est ensemencé sur six à huit tubes et placés dans l'étuve à 38 degrés en position inclinée, sous un angle de 15 degrés environ.

A cette technique, pour nous débarrasser des bactéries pouvant être associées au bacille tuberculeux, nous conseillons de substituer le procédé de E. Aubertin et A. Fontan.

Si, dans les tubes ensemencés, on ne voit apparaître aucune colonie, ce qui est le cas le plus fréquent, il ne faut pas en conclure qu'il ne s'est rien developpé, mais on doit racler ces tubes vers le huitième et le vingtième jour, puis après cinq à douze semaines. Les produits de raclage sont étalés, fixés sur une lame et colorés par la méthode habituelle de Ziehl-Nelsen.

Si cet examen est positif, on réensemence le produit de raclage sur milieu de Lœwenstein, et il arrive alors, assez souvent, que l'on obtienne des colonies macroscopiquement visibles.

A Saenz et Eisendrath ont étudié 17 cas suspects de tuberculose rénale, du service du professeur Legueu, par la culture directe du dépôt urinaire. Suivant le procédé de Lœwenstein, le culot était traité pendant quinze minutes par l'acide sulfurique à 10-12 p. 100 quand l'infection paraissait intense ou, quand la flore microbienne était peu abondante, par la soude à 4 ou 10 p. 100 avec un contact variant de trente

minutes à quatre heures à la température du laboratoire. On neutralisait ensuite en présence ou non de tournesol. L'ensemencement a été fait sur le milieu de Lœwenstein ou sur le milieu de Petragnani, que les auteurs considèrent comme très supérieur aux milieux de Pétroff et de Dorset. 9 des échantillons étudiés, sur 17, ont été l'objet de recherches comparatives : cultures et inoculations au cobaye. 6 de ces échantillons ne contenaient pas de bacilles tuberculeux décelables à l'examen direct après homogénéisation. Ils n'ont pas donné de culture et n'ont pas tuberculisé le cobaye. Des 3 autres, l'un ne contenait pas de bacilles à l'examen direct, les 2 autres en contenaient en plus ou moins grand nombre. Tous les 3 ont fourni une culture et tuberculisé le cobaye. Les 8 dernières urines, dont 3 ne contenaient pas de bacilles à l'examen direct après homogénéisation et centrifugation, ont également donné des cultures. Dans 11 de leurs cas de cultures positives, ils ont, par raclage, décelé des micro-colonies dans les délais suivants : 2 fois, 9 jours; 2 fois, 10 jours; 1 fois, 11 jours; 3 fois, 12 jours; 2 fois, 16 jours. Les colonies sont devenues visibles après l'ensemencement : 1 fois après 15 jours; 1 fois après 17 jours; 4 fois après 18 jours; 1 fois après 19 jours; 1 fois après 21 jours; 1 fois après 22 jours; 2 fois après 27 jours. Pour 5 cas, l'intervention chirurgicale a confirmé l'exactitude du diagnostic porté grâce à la culture. Dans 1 des cas, la culture présentant les caractères du type bovin, on inocula un lapin. Jamais les auteurs n'ont trouvé de bacilles aviaires ou bacilles paratuberculeux du smegma. Dans les 3 cas où culture et inoculation fournirent des résultats concordants, l'examen du raclage des microcultures fut positif huit jours avant que les cobayes inoculés aient réagi à l'intradermo-réaction tuberculinique ou qu'ils aient présenté une adénite inguinale suspecte. Les auteurs concluent que, dans tous les cas où l'on suppose que le bacille tuberculeux peut être présent dans une urine, il faut pratiquer une culture sur 6 ou 8 tubes de milieu de Lœwenstein et, à partir du huitième

jour, examiner systématiquement le produit de raclage de chaque tube. « Cette méthode, plus rapide et plus sûre que l'inoculation au cobaye, permet l'isolement de bacilles acido-résistants (aviaires, paratuberculeux) non pathogènes pour cet animal et aussi la caractérisation immédiate des types humains ou bovins qui se présentent ». Par sa simplicité, par la facilité de son emploi et la précision de ses résultats, par sa rapidité aussi, elle s'impose désormais pour le diagnostic des tuberculoses urinaires.

CHAPITRE IV

CUTI-REACTION ET INTRADERMO-REACTION REACTIONS SEROLOGIQUES

La cuti-réaction de Von Pirquet consiste à introduire par simple scarification sur la peau du sujet (généralement à la face extérieure du bras chez l'homme) une goutte de tuberculine.

Chez les sujets tuberculeux, on voit apparaître au bout de dix à vingt-quatre heures, quelquefois plus tardivement, une papule de couleur rouge lie de vin, étalée et très caractéristique, ressemblant beaucoup à certaines tuberculides qu'on rencontre assez souvent sur la peau, particulièrement chez les enfants.

L'intradermo-réaction de Ch. Mantoux consiste à injecter dans l'épaisseur même du derme une quantité dosée de tuberculine. Lorsque cette réaction est positive, la réaction est visible au bout de quelques heures : quarante-huit heures après la piqûre elle est à son acmé. Dans quelques cas rares, elle n'apparaît que tardivement, du troisième au cinquième jour. Elle a un aspect « en cocarde » : infiltration nodulaire centrale, rose ou rouge vif, entourée d'un halo rosé d'érythème. La peau est chaude, un peu sensible, elle donne la sensation d'un épaississement du derme.

Ces faits, d'une si grande valeur lorsqu'ils sont positifs chez le nourrisson, perdent vite de leur intérêt chez le grand enfant et chez l'adulte, où ils se présentent le plus souvent positifs sans que le sujet soit pour cela porteur d'une lésion

en évolution. Ces méthodes, appliquées au malade, ne sont guère plus employées, chez l'adulte tout au moins.

Chez les animaux de laboratoire, le cobaye en particulier, Mantoux recommande l'épreuve de l'intradermo-réaction par l'inoculation d'une goutte de solution-mère à 1 p. 100 de tuberculine précipitée de l'I. P. La région d'élection est la face externe des pattes postérieures épilées.

Calmette, dans son laboratoire, pratiquait l'inoculation dans le derme du coussinet plantaire, qui est assez épais et glabre chez le cobaye. La réaction positive se traduit par une infiltration œdémateuse du derme, de couleur blanche ou rosée, accompagnée souvent d'une suffusion sanguine. Son diamètre est de 12 à 18 millimètres. Elle atteint son complet développement quarante-huit heures après la piqûre, alors que dans la réaction négative tout a disparu à la fin du deuxième jour.

Ch. Mantoux a remarqué que les cobayes tuberculisés ne réagissent qu'au bout d'un temps assez variable, après l'inoculation infectante. Cette réaction serait tardive d'après Calmette, ce qui indiquerait qu'elle n'est pas très sensible vis-à-vis des rongeurs de laboratoire.

J. Blanco, cependant, dit obtenir des réponses précoces avec des résultats excellents en épilant une petite partie claire de la peau des lombes ou du flanc des cobayes avec un mélange à parties égales de sulfure de baryum et de carbonate de chaux et en injectant, dans les vingt-quatre heures, dans le derme, 0 cm³ 1 d'une dilution récente à 1/5 de tuberculine ancienne de Koch en sérum physiologique (soit 0 cm³ 02 de tuberculine brute). La réaction est considérée comme spécifique quand la rougeur est très apparente dans les vingt-quatre heures, l'infiltration devant durer quarante-huit heures.

Les réactions faibles ou fortes s'observeraient du septième au quinzième jour après l'infection (voir avec cobayes irradiés si elle n'apparaît pas plus tôt).

Ch. Mantoux et Perroy ont vu que les cobayes sains ayant reçu une injection sous-cutanée de tuberculine (0 cm³ 02 à 1/2 cm³ de tuberculine brute) peuvent donner une intradermo-réaction positive. Mais cette réaction est toujours moins nette chez les cobayes tuberculinisés que chez les cobayes tuberculeux et elle est tardive, elle n'apparaît qu'à partir du dixième jour jusqu'au trente-neuvième au maximum.

B. Auché et Augistrou ont étudié l'histologie de l'intradermo-réaction chez le cobaye tuberculeux. Ils ont constaté que les couches superficielles de l'épiderme sont farcies de noyaux et de fragments de noyaux leucocytiques. La région moyenne du corps muqueux de Malpighi est dissociée sur une grande étendue par une bande d'infiltration cellulaire exclusivement formée de leucocytes polynucléaires bien conservés. En outre, de nombreuses cellules épidermiques ont subi l'altération vacuolaire.

L'infiltration de polynucléaires, qui augmente jusqu'à la fin du deuxième jour, a envahi aussi le derme et le tissu cellulaire sous-cutané jusqu'aux premières fibres musculaires striées sous-jacentes. Les capillaires sanguins sont ectasiés et des globules rouges infiltrent le tissu conjonctif.

L'ophtalmo-réaction peut être utilisée chez les animaux. Calmette, M. Breton et L. Petit l'ont démontré sur des lapins ayant reçu, en injection intraveineuse, 1 centigramme de bacilles bovins émulsionnés finement et éprouvés toutes les vingt-quatre heures par instillation de tuberculine dans l'un des yeux. Dès le troisième jour, une réaction positive légère apparaît. Les jours suivants elle devient plus nette. Elle cesse de se manifester après quinze à dix-huit jours, au moment où la perte de poids indique que les lésions tuberculeuses sont déjà très étendues.

Pareille étude pourrait être faite sur le cobaye, si elle n'a déjà été faite, mais nous n'en avons pas connaissance.

Quoi qu'il en soit, ces méthodes pourraient être utilisées sur les animaux avant leur mise en expérience. Si les résul-

tats étaient négatifs, on pourrait conclure que l'animal n'était pas déjà contaminé accidentellement et spontanément.

Ce procédé est tout à fait infidèle sur les cobayes soumis à l'influence des rayons X inoculés avec du virus filtrant, ainsi que l'ont montré M. Nasta, J. Jovin et M. Blechmann.

La méthode sérologique de Besredka et, plus récemment, la méthode de floculation à la résorcine de Vernes peuvent également infirmer ou confirmer un diagnostic de tuberculose. Ces deux réactions doivent être faites simultanément. La réaction de Besredka est plutôt une réaction d'immunité, ou mieux permet de mettre en évidence les anticorps tuberculeux *témoins* de certains processus de digestion cellulaire, alors que la réaction de Vernes à la résorcine est plutôt une réaction de mesure d'infection.

Signalons que la réaction de Vernes à la résorcine présente une utilité certaine pour le diagnostic et le pronostic de la tuberculose chez l'homme. Elle peut être employée également pour examiner le sang des animaux de laboratoire inoculés avec des produits pathologiques tuberculeux.

V. Grysez et A. Breton ont expérimenté sur 487 cobayes. Ils signalent que les cobayes en bonne santé et non inoculés ont toujours des indices photométriques inférieurs à 44. Dans 82,5 p. 100 des cas, ce chiffre est compris entre 21 et 40. Les cobayes inoculés avec du colibacille ou de l'entérocoque ont conservé des indices photométriques normaux. Par contre, ceux qui ont été inoculés avec des produits suspects de tuberculose ont présenté, dans la presque unanimité des cas, des chiffres élevés. Mais ces auteurs signalent que l'examen sérologique doit être pratiqué : d'une part du sixième au quatorzième jour, d'autre part du vingt-cinquième au cinquantième jour. Dans l'intervalle, le sérum redevient momentanément normal. Ils signalent de plus que si, à l'autopsie, le cobaye ne présente pas de lésions tout en ayant un indice optique élevé, il y a lieu de soupçonner l'existence d'une tuberculose atypique due à un virus filtrable, et il convient, pour s'en

assurer, de procéder à la réinoculation des ganglions et des organes.

Pour porter le diagnostic de tuberculose chez des cobayes après inoculation de produits suspects, il convient de prélever le sang :

1° Au huitième jour, un indice dépassant 44 est une forte présomption en faveur de la tuberculose;
2° Au trentième jour, si l'on constate un indice supérieur à la normale, le cobaye sera sacrifié et l'autopsie montrera des lésions tuberculeuses;
3° Au soixantième jour, lorsque les deux examens antérieurs ont donné des indices normaux, on constatera que cette fois encore le sérum sera normal et l'autopsie du cobaye prouvera qu'il ne s'est pas contaminé.

Ces résultats doivent être contrôlés très sérieusement avant que la méthode passe dans la pratique courante. Nous relevons, dans les *Archives de l'Institut prophylactique*, t. IV, 1933, l'analyse d'un article de A. Lévy-Valensi et M. Loufrani, qui prétendent que chez le cobaye normal le chiffre de 44 est assez souvent dépassé (s'agit-il de cobayes spontanément infectés?) et que sur des cobayes inoculés avec des produits tuberculeux ils ont pu observer par trois fois des indices photométriques inférieurs aux chiffres les plus élevés trouvés avant l'inoculation.

Etant donné qu'il faut répéter les prises de sang, la meilleure technique semble devoir être la ponction intracardiaque. Chez le cobaye, le lieu d'élection se trouve sur le bord gauche du sternum, de 8 à 10 millimètres au-dessus du sommet de l'angle formé par la base de l'appendice xyphoïde et le dernier cartilage costal articulé avec le sternum.

L'aiguille, qui doit être enfoncée à 15 ou 17 millimètres de profondeur, pénètre ainsi au-dessus de l'avant-dernière articulation chondro-sternale et va piquer le ventricule gauche.

Plus haut, elle atteint l'oreillette; plus bas, elle traverse le diaphragme et va piquer le foie. Il faut légèrement incliner l'aiguille en dedans vers la ligne médiane.

Disons également que pour pratiquer la réaction de Vernes à la résorcine sur le sang des cobayes, il est indispensable que les prélèvements soient exécutés sur des animaux à jeun, à la même heure de la journée si possible, et que la réaction doit être effectuée le jour même du prélèvement sur des sérums non opalescents.

DEUXIÈME PARTIE

INOCULATION AU COBAYE IRRADIÉ

(Travail de John J. Morton.)

Aucun des procédés que nous avons examinés n'est exempt de critiques.

L'inoculation sous-cutanée courante au cobaye est un procédé lent et parfois assez peu sensible étant donné le nombre minimum de bacilles nécessaire pour tuberculiser l'animal.

Aussi avons-nous voulu reprendre le travail de John Morton déjà signalé, afin de nous rendre compte s'il permettait de raccourcir le temps des expériences et s'il augmentait la sensibilité du cobaye en diminuant ses moyens de défense.

Voici un résumé de ce travail de Morton, qui servit de base à notre expérimentation.

Murphy et Ellis ont montré que les souris blanches qui ont été exposées aux rayons X étaient plus sensibles à la tuberculose bovine que celles qui n'avaient pas été exposées aux mêmes rayons. Ils expliquent ce fait par la destruction du tissu lymphoïde, qui, prétendent-ils, constitue un agent important dans le mécanisme défensif contre la tuberculose. Il semble raisonnable d'affirmer que le cobaye peut être rendu moins résistant qu'il ne l'est normalement par un procédé analogue.

Des cobayes furent soumis à des doses variées de rayons de Rœntgen pour déterminer quelle est leur résistance aux rayons et voir si on pouvait ainsi les rendre plus réceptifs à

l'inoculation d'une urine tuberculeuse connue. Les expériences démontrèrent que les cobayes pouvaient supporter une quantité de rayons X considérable sans inconvénient pour leur santé.

Le nombre des globules blancs atteint, en moyenne, chez ces animaux 12.000 à 15.000 par millimètre cube, dont 40 à 45 p. 100 sont des lymphocytes, 1,2 à 1 p. 100 sont des formes transitoires et de grands mononucléaires, le reste étant des polynucléaires. Un traitement massif par les rayons X suffit à réduire le nombre total de plus de la moitié (4.000 à 6.000). Le nombre restera diminué pendant une période de plus d'une semaine, période aussi longue qu'on la recherchait. Les animaux ainsi irradiés puis inoculés avec une urine tuberculeuse développaient des lésions marquées de la maladie dans un temps beaucoup plus court que lors des inoculations aux animaux ordinaires. D'autres expériences montrèrent qu'une exposition aux rayons X faite peu de temps après l'inoculation était aussi efficace, pour diminuer la résistance de l'animal, que celle faite avant l'inoculation. Le fait semble avoir une importance pratique, car il obvie à la nécessité de garder à portée de la main un stock d'animaux traités.

Après une série d'essais, Morton jugea pratique et suffisant de soumettre les animaux à une seule exposition massive de rayons X. Il est probable, cependant, comme il est montré par les expériences de Murphy et Morton, que la répétition de petites expositions serait plus satisfaisante pour l'étude expérimentale, quand on désire produire un maximum d'effets sur le tissu lymphoïde avec un minimum de dommage pour les autres tissus.

La technique suivante fut adoptée : l'animal, placé dans une boîte de dimensions telles qu'il n'ait pas la possibilité de se mouvoir, est soumis aux rayons pendant dix minutes avec le tube Coolidge, le « tarjet » étant placé à 12 pouces (40 centimètres) de la base de la boîte.

Un courant de 5 milliampères fut passé à travers le tube,

faisant une étincelle de 8 inches 1/2 (28 centimètres) entre les pôles. Le « Snook interrupterless » fut le type de l'appareil employé, sans filtre : aluminium ou autre.

1 à 2 cm³ d'urine furent injectés dans le péritoine, et dix jours après, le cobaye fut sacrifié et examiné au point de vue des lésions de tuberculose qu'il pouvait présenter.

Comme chez les animaux non irradiés, les lieux d'élection habituels étaient la rate, les ganglions lymphatiques et le foie. Les lésions étaient variables avec la sévérité de l'injection. Parfois, la rate était criblée d'une masse de nodules caséeux de 2 à 4 millimètres de diamètre, alors que, d'autres fois, les points étaient plutôt de la grosseur d'une tête d'épingle, mais distinctement pathognomoniques. Les ganglions lymphatiques avaient généralement de 10 à 15 millimètres de diamètre et étaient caséeux, et généralement le foie était farci de noyaux de même dimension que ceux de la rate. Des coupes révélèrent le bacille de Koch et confirmèrent le diagnostic.

Microscopiquement, le tableau était celui d'une nécrose de coagulation et de caséification, avec une gangue de cellules endothéliales, mais pas de formation de cellules géantes, et une absence frappante d'infiltration par de petites cellules rondes. Il n'y a pas non plus apparence d'enkystement fibreux, comme on en voit, au début, dans une tuberculose lentement évolutive.

Nous résumons ci-après les tableaux dans lesquels Morton a donné les résultats de cette expérimentation.

Le premier cas ne peut être retenu, les cobayes irradiés étant morts après vingt-quatre heures.

Les cobayes, 2, 3, 4 et 5 ont été inoculés avec des urines contenant un nombre variable de bacilles de Koch.

Le cobaye 2, sacrifié après dix jours, présente un foie couvert de taches, une rate renfermant de petits nodules et des ganglions caséeux.

Le cobaye 3, sacrifié le septième jour, présente des lésions

étendues du foie, de la rate et des ganglions. Il en est de même du cobaye 4, mais l'auteur n'indique pas au bout de quel temps les lésions ont été constatées.

Le cobaye 5, sacrifié le dixième jour, présente une rate « riddled » (?) et des ganglions caséeux de la dimension d'une pièce de « dix cents ».

Les cobayes 6, 7, 8, 9 et 10 ont été inoculés avec des urines dans lesquelles on ne trouvait pas de bacilles tuberculeux à l'examen direct, après centrifugation.

Le cobaye 6, sacrifié le neuvième jour, présente une rate et des ganglions caséeux.

Le cobaye 7 présente, après huit jours, un foie couvert de lésions punctiformes. Les 4 cobayes inoculés avec la même urine, mais non irradiés, n'ont pas contracté la tuberculose. Le cobaye 8, sacrifié au quatorzième jour, présente un foie et une rate contenant de petits nodules caséeux.

Le cobaye 9, mort le huitième jour, présente des adhérences péritonéales dans lesquelles on trouve des bacilles de Koch.

Le cobaye 10, sacrifié le quatorzième jour, présente des lésions du foie, une rate « riddled » (?) et des ganglions caséeux.

Les 10 cobayes, de 11 à 20, irradiés et inoculés avec des urines dans lesquelles on ne trouvait pas de bacilles de Koch, n'ont pas présenté de lésions tuberculeuses. Il en fut de même des animaux témoins simplement inoculés.

En résumé, 4 cobayes irradiés et inoculés avec des urines contenant des bacilles de Koch ont présenté, entre le septième et le dixième jour, des lésions tuberculeuses, et 5 cobayes irradiés et inoculés avec des urines dans lesquelles on n'avait pas trouvé de bacilles de Koch ont été tuberculisés entre le huitième et le quatorzième jour.

Quoique le nombre des observations rapportées soit relativement faible, l'uniformité des résultats justifie notre travail, dit Morton dans ses conclusions.

Il fait plus ; à notre avis, il confirme et élargit le cadre

des observations de Murphy et Ellis, par lesquelles ces deux auteurs démontrent que les souris blanches sont rendues beaucoup plus sensibles à la tuberculose bovine par des expositions convenables aux rayons X. Ces expériences de Morton montrent qu'il en est de même pour le cobaye vis-à-vis de la tuberculose humaine.

Quant à savoir si cette diminution de la résistance est due à la destruction des éléments lymphoïdes, comme l'ont conclu Murphy et Ellis, ce travail n'apporte pas de précision. Pour démontrer ce point de vue spécial, il serait, semble-t-il, préférable d'user de la méthode de l'irradiation fractionnée, comme le recommande Murphy, où un maximum d'effet peut être obtenu sur les éléments lymphoïdes avec minimum de lésions sur les autres tissus. Mais, pour des raisons évidentes cependant, cette méthode ne serait pas pratique pour l'usage clinique.

Il est possible, aujourd'hui, d'augmenter la réceptivité des cobayes vis-à-vis de la tuberculose par des expositions aux rayons X, de telle sorte que l'inoculation à l'animal irradié, faite en vue du diagnostic, permet d'obtenir un résultat beaucoup plus rapidement que l'inoculation à des animaux normaux.

En particulier dans la tuberculose rénale, quand il faut se résoudre à l'usage des inoculations pour confirmer un diagnostic, alors qu'il faudrait cinq à sept semaines avec des animaux ordinaires, huit à dix jours suffisent avec des cobayes qui ont été soumis à l'action des rayons X.

Les lésions sont si marquées chez ces animaux que le diagnostic est certain dans le laps de temps indiqué ci-dessus.

TROISIÈME PARTIE

EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Ne pouvant nous placer exactement dans les mêmes conditions que Morton, nous avons été obligé de régler notre technique avec les appareils dont nous disposions.

M. le Professeur Réchou a bien voulu nous autoriser à faire irradier nos cobayes dans son service de clinique d'électricité médicale, nous l'en remercions bien respectueusement. M. le Docteur Guichard, chef de clinique, a lui-même réglé la technique et irradié nos animaux soit à la Clinique, quand nous avions notre matériel dans la matinée, soit à son domicile particulier quand ce matériel nous arrivait trop tard ou dans l'après-midi. Nous ne saurions trop le remercier de son aimable et inlassable complaisance.

Technique radiologique. — Nous avons utilisé pour les irradiations soit un appareil à tension constante soit un appareil à tension pulsatoire fabriqués par la Compagnie générale de radiologie (Anciens établissements Gaiffe, Gallot et Pillon). *La tension constante*, spécialement destinée à la radiothérapie pénétrante, emploie les deux demi-périodes du courant alternatif (fréquence habituelle 50) pour charger séparément, par l'intermédiaire de deux soupapes du type *Kénotron*, deux condensateurs montés en série. Ce système permet donc d'utiliser la période entière et d'obtenir un courant continu. La tension que l'on peut obtenir avec l'appareil à

tension constante des établissements Gaiffe est de 200 kilovolts. Un dispositif auto-régulateur permet de réduire au minimum les variations de tension du secteur. C'est un appareil très stable, silencieux et d'une commande aisée.

Le générateur à *tension pulsatoire* utilise également le courant alternatif. Le montage comprend deux dispositifs de Villard juxtaposés : le transformateur à circuit magnétique fermé possède un secondaire divisé en deux enroulements égaux, mais de sens inverse. La *Pulsatrix* de la maison Gaiffe, que nous avons employée, peut atteindre 300 kilovolts.

Les constantes que nous avons employées sont les suivantes :

Tension, 105 kilovolts;
Intensité, 5 milliampères;
Distance du focus au plancher de la boîte dans laquelle étaient enfermés les cobayes, 20 centimètres.

Nous avons mesuré, à l'aide de l'appareil de Hammer, les doses reçues, sans filtre, par les animaux en expérience. Nous les indiquerons à propos de chacun d'eux.

De l'avis des spécialistes électro-radiologistes, il est périmé, à l'heure actuelle, de calculer les doses appliquées en fonction du facteur temps. Les doses en effet varient suivant le secteur, les générateurs, les ampoules, les conditions d'application (distance, rayonnement diffusé, etc.). A l'heure actuelle, les radiologistes au courant des progrès de la technique mesurent leurs radiations avec les appareils de Dauvillier, de Hammer, Mécapion. Les avantages des instruments dans le genre du dosimètre de Hammer sont de donner le total de la dose en unités r internationales et d'être facilement étalonnables au moyen d'une petite quantité de radium, étalon fixé.

Les doses que nous avons appliquées au cours de nos expériences préliminaires variaient de 400 à 700 r. La dose de

700 r nous a très rapidement paru trop forte. Elle a provoqué chez certains de nos animaux des poussées congestives, plus ou moins intenses, pouvant aller jusqu'à l'hémorragie interne et provoquant la mort de l'animal dans les vingt-quatre heures. C'est ainsi que l'un d'eux, irradié le 17 juin, vers 11 heures, fut trouvé mort le 18 au matin. Il présentait des hémorragies multiples. L'intestin grêle était en partie rempli de sang; le gros intestin présentait des taches hémorragiques; le poumon était très congestionné. L'estomac et les testicules étaient le siège de suffusions hémorragiques. Le foie était décoloré. Les reins et la rate paraissaient normaux. Du sang s'était écoulé abondamment par la bouche. L'examen histologique pratiqué par M. le Professeur Muratet et par nous-même nous a montré : des foyers hémorragiques dans et autour du pancréas; des hémorragies abondantes, en nappe, dans la sous-muqueuse de l'intestin et de l'estomac; des lésions pulmonaires d'alvéolite hémorragique et fibrineuse; des lésions rénales congestives avec dégénérescence granuleuse des cellules épithéliales des tubes contournés et des cylindres granuleux dans les tubes. Ce cobaye n'avait pas été inoculé, fort heureusement. D'autres animaux ayant reçu des doses de 560 r, de 540 r, 520 r, survécurent un temps suffisant pour que le résultat de l'inoculation puisse être considéré comme valable, mais présentaient à l'autopsie des suffusions sanguines et des hémorragies. Pour ces raisons nous adoptâmes, avec le Docteur Guichard, la dose maxima de 500 r, qui nous paraît être aussi la dose optima. C'est ainsi que nous avons pu conserver des animaux, irradiés à cette dose, pendant trente-quatre, trente-huit et cinquante jours, sans qu'ils aient présenté de signes morbides, leur poids ayant augmenté ou n'ayant varié que dans des limites étroites d'ordre physiologique. Cependant, nous pensons que cette dose pourrait être un peu abaissée, suivant le poids de l'animal, et pourrait être pratiquement comprise entre 400 et 500 r.

Les inoculations, les examens du sang et les examens his-

topathologiques ont été faits par M. le Professeur Muratet et par nous-même.

Nous donnerons ci-après le protocole de nos expériences, nous réservant ensuite d'en tirer les conclusions générales qu'elles comportent. Elles furent faites dans les conditions ordinaires de la pratique, avec un matériel variable dans lequel on avait d'abord recherché avec le plus grand soin les bacilles tuberculeux. Les urines longuement centrifugées, la recherche était faite sur le dépôt. C'est aussi ce dépôt, variable tant par sa quantité que par sa cytologie, sa teneur en bacilles tuberculeux et en bactéries associées, que nous avons inoculé sous la peau de l'abdomen du cobaye en prenant toutes les précautions d'usage : épilation, flambage, ouverture de la paroi au thermocautère et inoculation à la pipette. Cette inoculation a été faite après irradiation et une demi-heure environ après elle. Nous diviserons nos animaux en deux séries. Dans la première nous classerons les animaux qui n'ont pas été tuberculisés mais qui avaient été inoculés avec des dépôts urinaires suspects dans lesquels on ne trouvait pas de bacilles tuberculeux sur frottis directs. La seconde comprendra les animaux tuberculisés, inoculés, sauf un (cobaye X), avec des dépôts urinaires contenant des bacilles tuberculeux en plus ou moins grand nombre décelables directement sur frottis par les méthodes courantes d'examen. Dans chaque série, les animaux seront placés non par date d'expérimentation mais suivant la durée de leur survie après l'irradiation et l'inoculation.

Nous indiquerons ici, une fois pour toutes, que le premier examen de sang, pour chaque cobaye, a été fait avant l'irradiation et l'inoculation. La numération globulaire a été faite avec l'appareil de Hayem-Nachet; les frottis sur lames ont été colorés par la méthode du Professeur Sabrazès, au bleu de méthylène à 1/500. Les pièces d'autopsie, fixées par le formol à 10 p. 100, ont été débitées en coupes minces après inclusion à la paraffine. Les coupes ont été colorées à l'hématéine-éosine, au Giemsa, et les recherches du bacille tuber-

culeux effectuées après coloration des coupes par une méthode dérivée de la méthode de Ziehl-Nelsen, qui nous a donné d'excellents résultats. Nous indiquerons ici cette méthode en toute confiance. Sur les coupes débarrassées de la paraffine et passées à l'alcool à 95 degrés, on fait agir, à froid, pendant une heure, la solution ordinaire de Ziehl (Fuchsine phéniquée) employée pour la coloration des bacilles dans les crachats. Au bout d'une heure, on chauffe avec précaution jusqu'à émission de légères vapeurs. On laisse refroidir, on lave doucement à l'eau et on fait agir pendant dix minutes environ une solution de bleu de méthylène alcool-acide lactique, dite « Bleu Cépède ». Lavage à l'eau, à la série des alcools, montage au baume de Canada. Par ce procédé, la coupe est d'une coloration parfaite et la recherche s'effectue avec la plus grande facilité.

SERIE I

Cobaye I.

Poids, 307 grammes. Irradié (520 r. 10') et inoculé, le 20 juin 1933, avec un dépôt urinaire suspect, mais dans lequel on n'a pas trouvé de bacilles tuberculeux.

19 juin. — Examen du sang :

Globules rouges, 6.880.000 par mm^3;
Globules blancs, 6.000 par mm^3;
Polynucléés neutrophiles, 55,82 p. 100;
Lymphocytes, 35,89 p. 100;
Mononucléés, 1,22 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,22 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,81 p. 100;
Eosinophiles, 4,29 p. 100;
Mastzellen, 0,61 p. 100.

L'animal meurt le 21 juin, vingt-quatre heures après l'inoculation.

L'examen histologique nous montre un petit nodule inflammatoire sous-dermique, infiltrant légèrement les muscles de la paroi abdominale, au point d'inoculation; le foie est cardiaque, le poumon et les reins sont très congestionnés.

Cobaye II.

Irradié (500 r, 10') et inoculé, le 4 avril 1933, avec une urine provenant d'un malade de la salle 19, lit 3 (B. J., 36 ans), reconnu non bacillaire par M. le Docteur Denis et transéaté en chirurgie, où l'on porte le diagnostic de phlegmon périnéphritique. L'urine contenait du pus, du sang, peu de germes, pas de bacilles tuberculeux.

4 avril 1933. — Poids, 467 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.320.000 par mm³;
Globules blancs, 13.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 76,5 p. 100;
Lymphocytes, 12,5 p. 100;
Mononucléés, 4 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2 p. 100;
Eosinophiles, 3,5 p. 100;
Mastzellen, 0,5 p. 100.

7 avril 1933. — Poids, 401 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.160.000 par mm³;
Globules blancs, 3.600 p. mm³;
Polynucléés neutrophiles, 62,15 p. 100;
Lymphocytes, 21,51 p. 100;
Mononucléés, 11,55 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,59 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,59 p. 100;
Mastzellen, 1,59 p. 100.

10 avril 1933. — Poids, 449 grammes. L'animal meurt spontanément cinq jours après l'inoculation. Au point d'inoculation, on trouve une traînée lymphangitique nette avec semis de petites granulations dans lesquelles on trouve des cocci et des diplocoques prenant le Gram. On ne trouve pas de bacilles tuberculeux. Rien au niveau des divers organes. Pas de ganglions. Il n'a pas été fait d'examen histologique.

Cobaye III.

Poids, 614 grammes. Irradié (500 r, 10') et inoculé avec un dépôt urinaire purulent dans lequel on n'a pas trouvé de bacilles tuberculeux. Le malade avait une adénite étiquetée : lymphogranulomatose, par le Docteur T... Traitement par rayons X. Fistulisation. Hématurie. Le 31 mai 1933 urines purulentes, sans bacilles de Koch. Depuis, plusieurs examens ont été faits en série, tous négatifs. Le 10 novembre 1933, le Docteur Dax pose le diagnostic de lésion gonococcique et des gonocoques ont été trouvés par le Docteur Moureau dans le liquide prostatique.

31 mai 1933. — Examen du sang avant la mise en expérience :

Polynucléés neutrophiles, 70,11 p. 100;
Lymphocytes, 18,39 p. 100;
Mononucléés, 1,14 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,87 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2,27 p. 100;
Eosinophiles, 4,59 p. 100;
Mastzellen, 0,57 p. 100.

1er juin 1933. — Poids, 575 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.000.000 par mm³;
Globules blancs, 5.500 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 75,75 p. 100;
Lymphocytes, 10,6 p. 100;

Mononucléés, 4,54 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 4,54 p. 100;
Eosinophiles, 6,06 p. 100.

3 juin. — Poids, 562 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.400.000 par mm³;
Globules blancs, 2.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 76,63 p. 100;
Lymphocytes, 12,14 p. 100;
Mononucléés, 5,60 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 5,6 p. 100.

5 juin. — Poids, 560 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.720.000 par mm³;
Globules blancs, 8.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 82,43 p. 100;
Lymphocytes, 10,81 p. 100;
Mononucléés, 2,70 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,35 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2,70 p. 100.

7 juin. — Poids, 572 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.610.000 par mm³;
Globules blancs, 1.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 49,71 p. 100;
Lymphocytes, 16,76 p. 100;
Mononucléés, 5,78 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,57 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2 p. 100;
Eosinophiles, 1,73 p. 100.

L'animal est sacrifié le 8 juin. Il présente un nodule suppuré, au point d'inoculation, avec traînées lymphangitiques notables, sous-cutanées, allant du pli inguinal aux fausses côtes. Les poumons sont congestionnés; les reins sont un peu gros. On ne trouve pas de bacilles tuberculeux dans le pus.

Examen histo-pathologique. — Lésions inflammatoires sous-cutanées au point d'inoculation, non tuberculeuses, Lésions congestives du rein avec néphrite épithéliale et cylindres hyalins. Congestion du poumon, de la substance médullaire surrénalienne. Foie et rate normaux.

Cobaye IV.

Irradié (560 r, 10') et inoculé le 9 juin 1933 avec un dépôt urinaire (Albert) provenant du laboratoire de M. le Professeur Labat. L'urine du rein droit contenait d'assez nombreux leucocytes et des bacilles tuberculeux en amas. L'urine du rein gauche renfermait de rares leucocytes, de nombreux globules rouges, pas de bacilles tuberculeux. C'est cette urine gauche qui a fourni le dépôt inoculé.

7 juin 1933. — Poids, 355 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.640.000 mm³;
Globules blancs, 4.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 50 p. 100;
Lymphocytes, 33,89 p. 100;
Mononucléés, 1,69 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 5,08 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1, 69 p. 100;
Eosinophiles, 6,77 p. 100;
Mastzellen, 0,84 p. 100.

10 juin. — Poids, 385 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.300.000 par mm³;
Globules blancs, 7.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 83,94 p. 100;
Lymphocytes, 9,12 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1.45 p. 100.
Mononucléés vacuolaires, 1,82 p. 100;
Eosinophiles, 3,64 p. 100;

12 juin. — Poids, 379 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.280.000 par mm³;
Globules blancs, 3.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 62,90 p. 100;
Lymphocytes, 27,41 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,61 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 3,22 p. 100;
Eosinophiles, 3,22 p. 100;
Mastzellen, 1,61 p. 100.

14 juin. — Poids, 422 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.480.000 par mm³;
Globules blancs, 800 par mm³.

Il est impossible d'établir une formule leucocytaire. Sur deux frottis, on peut, avec peine, compter 13 éléments blancs seulement : 4 polynucléés neutrophiles et 9 lymphocytes.

16 juin. — Poids, 395 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.920.000 par mm³;
Globules blancs, 1.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 67 p. 100;
Lymphocytes, 28 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2 p. 100;
Eosinophiles, 2 p. 100.

L'animal meurt le 19 juin au soir, neuf jours après la mise en expérience. Au point d'inoculation la peau est ulcérée. Des traînées lymphangitiques se dirigent de ce point vers le repli inguinal dans lequel on trouve une suffusion hémorragique avec un petit ganglion hémorragique gros comme une lentille. Du côté opposé on trouve un ganglion de même aspect, gros comme un petit pois. L'intestin grêle est rempli de sang. Le foie et les reins sont décolorés, couleur feuille morte. Les poumons sont rouge vineux aux bases et au niveau du hile, blancs par ailleurs, laissant sourdre à la pression

une mousse abondante. Le cœur est mou, flasque, décoloré. L'animal a présenté un écoulement sanguin par les narines. Rien à signaler dans la trachée.

Examen histo-pathologique. — Minimes lésions inflammatoires, non tuberculeuses, au point d'inoculation. Ce sont des lésions hémorragiques diffuses qui dominent dans tous les organes; elles sont particulièrement importantes au niveau de l'intestin et du poumon.

Cobaye V.

Poids, 450 grammes. Irradié (500 r, 20') et inoculé le 9 juin 1933 avec un dépôt urinaire (Ussel) provenant du Laboratoire de M. le Professeur Labat. Deux examens antérieurs pratiqués sur l'urine totale du malade avaient permis de déceler la présence d'un nombre notable de bacilles de Koch. L'urine actuelle, provenant du rein droit, ne contenait pas de bacilles tuberculeux.

7 juin 1933. — Poids, 458 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.140.000 par mm³;
Globules blancs, 6.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 54,10 p. 100;
Lymphocytes, 25,34 p. 100;
Mononucléés, 2,73 p. 100.
Mononucléés à noyau lobé, 4,10 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 4,10 p. 100;
Eosinophiles, 7,53 p. 100.

10 juin. — Poids, 449 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.900.000 par mm³;
Globules blancs, 8.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 85,83 p. 100;
Lymphocytes, 7,93 p. 100;

Mononucléés, 0,85 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,85 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,28 p. 100;
Eosinophiles, 3,25 p. 100.

12 juin. — Poids, 414 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.480.000 par mm³;
Globules blancs, 4.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 39,42 p. 100;
Lymphocytes, 43,27 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 5,76 p. 100;
Eosinophiles, 12,01 p. 100.

14 juin. — Poids, 452 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.400.000 par mm³;
Globules blancs, 1.200 par mm³.

Il est impossible d'établir la formule leucocytaire. Sur deux frottis de sang, on compte avec beaucoup de difficulté : 20 polynucléés neutrophiles, 20 lymphocytes et deux éosinophiles.

16 juin. — Poids, 463 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.640.000 par mm³;
Globules blancs, 2.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 15,96 p. 100;
Lymphocytes, 80,28 p. 100;
Mononucléés, 0,93 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,46 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,40 p. 100;
Eosinophiles, 0,93 p. 100;

19 juin. — Poids, 493 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.400.000 par mm³;
Globules blancs, 2.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 54,41 p. 100;
Lymphocytes, 42,64 p. 100;
Eosinophiles 2,94 p. 100.

21 juin. — L'animal est sacrifié quatorze jours après l'inoculation. Au point d'inoculation on trouve un petit nodule avec traînée lymphangitique remontant vers le thorax et accompagnée de deux petits ganglions. Rien à signaler au niveau des organes abdominaux et thoraciques.

Examen histo-pathologique. — Dans les pièces examinées, on ne trouve ni lésions tuberculeuses, ni bacilles tuberculeux. La peau, au niveau du point d'inoculation, est intacte. Au-dessous d'elle, on trouve un foyer inflammatoire banal avec quelques traînées de cellules rondes, quelques polynucléés, quelques cellules plasmatiques fusant dans le tissu cellulaire sous-cutané. La rate contient une très grande quantité de pigment ocre; le pancréas est normal; le foie et les reins sont congestionnés; le poumon, congestionné, présente des lésions d'alvéolite fibrineuse.

Cobaye VI.

Irradié (340 r. 10') et inoculé le 29 avril 1933 avec un dépôt urinaire provenant d'un malade atteint de cystite (D. L..., 31 ans. Service de M. le Prof. Duvergey). Ce malade aurait eu une épididymite tuberculeuse et une tumeur blanche du genou droit. Dans l'urine on n'a pas trouvé de bacilles tuberculeux.

27 avril 1933. — Poids, 386 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 4.660.000 par mm³;
Globules blancs, 20.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 56,68 p. 100;
Lymphocytes, 19,32 p. 100;
Mononucléés, 12,88 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,68 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,01 p. 100;
Eosinophiles, 10,50 p. 100.

30 avril. — Poids, 363 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.200.000 par mm³;
Globules blancs, 17.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 63,79 p. 100;
Lymphocytes, 15,51 p. 100;
Mononucléés, 15,51 p. 100;
Eosinophiles, 5,17 p. 100.

3 mai. — Poids, 277 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.400.000 par mm³;
Globules blancs, 2.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 32,65 p. 100;
Lymphocytes, 12,24 p. 100;
Mononucléés, 13, 26 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 3,06 p. 100.
Mononucléés vacuolaires, 27,55 p. 100;
Eosinophiles, 11,22 p. 100;

7 mai. — Poids, 261 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.480.000 par mm³;
Globules blancs, 2.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 51,72 p. 100;
Lymphocytes, 11, 20 p. 100;
Mononucléés, 10,34 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 4,31 p. 100,
Mononucléés vacuolaires, 15,51 p. 100;
Eosinophiles, 6,03 p. 100;
Mastzellen, 0,86 p. 100.

16 mai. — Poids, 251 grammes. L'animal meurt le dix-septième jour après l'inoculation. Au point d'inoculation, on trouve une traînée lymphangitique et quelques petits abcès à staphylocoques. Dans le pus, on ne peut mettre en évidence des bacilles tuberculeux. Pas d'autres lésions macroscopiques. Il n'a pas été fait d'examen histo-pathologique.

Cobaye VII.

Irradié (540 r, 10') et inoculé le 29 avril 1933 avec une urine dans laquelle on aurait trouvé, peu de temps auparavant, quelques bacilles de Koch. Nous n'en avions pas trouvé dans l'échantillon inoculé.

27 avril. — Poids, 497 grammes. Examen du sang pratiqué avant la mise en expérience :

Globules rouges, 4.660.000 par mm³;
Globules blancs, 18.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 70,63 p. 100;
Lymphocytes, 7,65 p. 100;
Mononucléés, 3,40 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,70 p. 100;
Eosinophiles, 16,59 p. 100.

30 avril. — Poids, 484 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.400.000 par mm³;
Globules blancs, 6.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 51,75 p. 100;
Lymphocytes, 39,91;
Mononucléés, 1,75 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2,63 p. 100;
Eosinophiles, 3,50 p. 100.

3 mai. — Poids, 457 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.840.000 mm³;
Globules blancs, 7.600 p. mm³;
Polynucléés neutrophiles, 57,14 p. 100;
Lymphocytes, 29,41 p. 100;
Mononucléés, 1,68 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,52 p. 100.
Mononucléés vacuolaires, 1,68 p. 100;
Eosinophiles, 6,72 p. 100;
Mastzellen, 0,84 p. 100.

7 mai. — Poids, 433 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.480.000 par mm³;
Globules blancs, 5,200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 71,87 p. 100;
Lymphocytes, 12,05 p. 100;
Mononucléés, 2,23 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,88 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 3,57 p. 100;
Eosinophiles, 7,14 p. 100;
Mastzellen, 2,23 p. 100.

19 mai. — Poids, 425 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.340.000 par mm³;
Globules blancs, 5.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 52,68 p. 100;
Lymphocytes, 37,63 p. 100;
Mononucléés, 3,22 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,15 p. 100;
Eosinophiles, 3,22 p. 100;
Mastzellen, 1,07 p. 100.

21 mai. — Poids, 391 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.800.000 par mm³;
Globules blancs, 16.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 46,28 p. 100;
Lymphocytes, 45,37 p. 100.
Mononucléés, 1,85 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,03 p. 100;
Eosinophiles, 4,62 p. 100.

Ce cobaye a présenté, six jours après l'inoculation, de petits nodules inguinaux, qui ont spontanément disparu. Il a été sacrifié vingt-quatre jours après l'inoculation. Les divers organes ne présentaient aucune lésion. Pas de ganglions. Il n'a pas été fait d'examen histologique.

Cobaye VIII.

Irradié (520 r, 10') et inoculé le 26 juin 1933 avec une urine provenant d'une malade, apparemment bien portante. On aurait trouvé, il y a deux ans, des bacilles tuberculeux et une inoculation au cobaye aurait été positive (?). Plusieurs examens directs faits avant la présente inoculation ont été négatifs. L'urine n'est ni purulente, ni hématique. Un autre cobaye, non irradié, a été également inoculé le même 26 juin. Ce dernier, sacrifié au quarante-deuxième jour, ne présentait aucune lésion. Son poids avait augmenté de 43 grammes.

19 juin. — Poids, 243 grammes. Examen du sang pratiqué avant la mise en expérience:

Globules rouges, 6.120.000 par mm³;
Globules blancs, 6.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 31,81 p. 100;
Lymphocytes, 51,51 p. 100;
Mononucléés, 0,75 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,27 p. 100;
Eosinophiles, 13,63 p. 100.

28 juin. — Poids, 220 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.280.000 par mm³;
Globules blancs, 3.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 85,41 p. 100;
Lymphocytes, 6,97 p. 100;
Mononucléés, 0,73 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,10 p. 100;
Eosinophiles, 4,22 p. 100;
Mastzellen, 0,55 p. 100.

Dans les 85,41 p. 100 de polynucléés sont comprises 11 pour 100 d'*ombres* de polynucléés, à protoplasma effacé, avec noyau estompé, mais très reconnaissable.

30 juin. — Poids, 256 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.160.000 par mm³;
Globules blancs, 4.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 54,60 p. 100;
Lymphocytes, 34,75 p. 100;
Mononucléés, 3,54 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,70 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,41 p. 100;
Eosinophiles, 4,25 p. 100;
Mastzellen, 0,70 p. 100.

2 juillet. — Poids, 234 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.120.000 par mm³³;
Globules blancs, 5.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 37,03 p. 100;
Lymphocytes, 62,96 p. 100.

4 juillet. — Poids, 216 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.040.000 par mm³;
Globules blancs, 5.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 11,49 p. 100;
Lymphocytes, 78,16 p. 100;
Mononucléés, 2,29 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,14 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,14 p. 100;
Eosinophiles, 3,44 p. 100.

6 juillet. — Poids, 218 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.800.000 par mm³;
Globules blancs, 6.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 46,15 p. 100;
Lymphocytes, 38,46 p. 100;
Mononucléés, 7,69 p. 100;
Eosinophiles, 7,69 p. 100;
Myélocytes neutrophiles, 2,29 p. 100.

Cet animal, que nous avons conservé pendant trente-huit jours, ne présentait aucune lésion. Son poids, à la date du 1er août, était, à 5 grammes près, égal au poids du 26 juin, date de l'inoculation.

SERIE II

Cobaye IX.

Irradié (440 r, 10') et inoculé le 31 mai 1933 avec l'urine d'un malade entré dans le service du Professeur Duvergey (S. G..., salle H, lit 5) pour tuberculose rénale. Cette urine donnait un dépôt purulent contenant, à l'examen direct, de rares bacilles de Koch.

29 mai 1933. — Poids, 464 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 6.000.000 par mm³;
Globules blancs, 5.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 85,79 p. 100;
Lymphocytes, 13,01 p. 100;
Mononucléés, 2,95 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,77 p. 100.

1er juin. — Poids, 409 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.520.000 par mm³;
Globules blancs, 3.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 88,92 p. 100;
Lymphocytes, 5,38 p. 100;
Mononucléés, 2,09 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,19 p. 100;
Eosinophiles, 2,09 p. 100;
Mastzellen, 0,29 p. 100.

3 juin. — Poids, 409 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.000.000 par mm³;
Globules blancs, 1.600 par mm³;

Polynucléés neutrophiles, 80,50 p. 100;
Lymphocytes, 9,50 p. 100;
Mononucléés, 3,50 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 3,50 p. 100;
Eosinophiles, 3 p. 100.

L'animal est trouvé mort le 4 juin, quatre jours après sa mise en expérience.

Au point d'inoculation, on trouve un petit amas purulent entouré de suffusions hémorragiques. Ce pus contient des bacilles tuberculeux en très grand nombre. Traînée lymphangitique de 3 centimètres de longueur sur 1/2 à 1 centimètre de largeur le long du repli inguinal. Deux ganglions mésentériques, deux petits ganglions lombaires. Rien au foie, à la rate, aux reins. Petit abcès sur le bord du poumon.

Examen histo-pathologique. — Au niveau du point d'inoculation, la peau est ulcérée et l'on trouve une néoformation inflammatoire et hémorragique formant croûte à la surface, tandis que des fusées leucocytiques s'insinuent entre les faisceaux musculaires, qui présentent les lésions habituelles en pareil cas (perte de la striation, dégénérescence moirée, nécrose de coagulation). Ces fusées leucocytiques sont constituées par des leucocytes polynucléés, des lymphocytes et un bon nombre de cellules plasmatiques. Sous les muscles, on trouve des ganglions ayant le volume de petites lentilles présentant des territoires semi-nécrosés. On y décèle la présence de bacilles tuberculeux en petit nombre.

Le poumon est œdémateux avec lésions d'alvéolite hémorragique et petits nodules lymphocytiques autour de quelques bronches. Le foie, congestionné, présente des hémorragies diffuses et des lésions cellulaires importantes. En certains points les cellules sont nécrosées, vacuolaires. Sur de vastes territoires, elles ne présentent plus de noyaux intacts, et les travées ne sont plus visibles. Entre ces lésions destructives et les travées reconnaissables, on trouve de grandes cellules

arrondies, uni, bi ou trinucléées, bien colorées, à noyau hyperchromique, tranchant sur un fond de couleur claire fait de globules rouges, de fibrine et de débris cellulaires protoplasmiques ou nucléaires finement granuleux.

Cobaye X.

Irradié (500 r, 10') et inoculé le 31 mai 1933 avec l'urine d'une malade (M. V...) opérée il y a six ans pour tuberculose rénale. Depuis, un examen des urines a montré des bacilles de Koch, un autre a été négatif. Le dépôt actuel, purulent et hématique, assez abondant, ne présente pas de bacilles.

22 mai 1933. — Poids, 486 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.860.000 par mm³;
Globules blancs, 6.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 33,74 p. 100;
Lymphocytes, 55,82 p. 100;
Mononucléés, 6,74 p. 100;
Eosinophiles, 3,68 p. 100.

1er juin. — Poids, 482 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.000.000 par mm³;
Globules blancs, 8.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 71,30 p. 100;
Lymphocytes, 18,80 p. 100;
Mononucléés, 2,15 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,65 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,25 p. 100;
Eosinophiles, 4,42 p. 100;
Mastzellen, 0,43 p. 100.

3 juin. — Poids, 460 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.080.000 par mm³;
Globules blancs, 1.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 77,60 p. 100;
Lymphocytes, 8,40 p. 100;
Mononucléés, 3,20 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,60 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 4,80 p. 100;
Eosinophiles, 3,20 p. 100;
Mastzellen, 1,2 p. 100.

Le 3 juin, c'est-à-dire quatre jours après l'inoculation, au point d'inoculation, s'échappe un peu de pus grumeleux contenant quelques bacilles de Koch.

L'animal est trouvé mort le 5 juin au matin. Il pèse 401 grammes. Il ne présente d'autres lésions macroscopiques que le petit abcès que nous venons de signaler.

Examen histo-pathologique. — Au-dessous du revêtement cutané, qui est normal, on trouve un véritable abcès, en nappe, fusant à travers les muscles qui sont dissociés, fragmentés, dégénérés (perte de la striation, dégénérescence moirée ou vitreuse). Puis on trouve une formation granulomateuse riche en vaisseaux sanguins néoformés, bourrée de leucocytes polynucléés. La recherche du bacille de Koch permet d'en trouver assez facilement, mais en petit nombre. On peut en compter néanmoins plus d'une quinzaine sur une seule préparation. Ces bacilles sont du type long, isolés ou par deux.

Le poumon est congestionné et œdémateux; il présente quelques îlots lymphoïdes péribronchiques.

Le pancréas est normal; la rate est légèrement congestionnée, surchargée de pigment ocré hématique, sa capsule est un peu épaissie. Le foie est peu altéré, sans lésions tuberculeuses, sans nodules lymphoïdes.

Cobaye XI.

Irradié (420 r, 10') et inoculé le 31 mai avec une urine donnant un dépôt purulent et hématique abondant, renfermant de nombreux bacilles de Koch isolés ou en petits amas.

29 avril 1933. — Poids, 397 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 6.580.000 par mm³;
Globules blancs, 8.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 38,84 p. 100;
Lymphocytes, 43,80 p. 100;
Mononucléés, 5,78 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,65 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,82 p. 100;
Eosinophiles, 9,09 p. 100.

1er juin. — Poids, 381 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.900.000 par mm³;
Globules blancs, 4.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 71,55 p. 100;
Lymphocytes, 11,63 p. 100;
Mononucléés, 2,15 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 3,01 p. 100;
Eosinophiles, 11,20 p. 100;
Mastzellen, 0,43 p. 100.

3 juin. — Poids, 353 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.480.000 par mm³;
Globules blancs, 2.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 74 p. 100;
Lymphocytes, 17,20 p. 100;
Mononucléés, 3,20 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,80 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,40 p. 100;
Eosinophiles, 3,60 p. 100;
Mastzellen, 4,40 p. 100.

5 juin. — Poids, 356 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.920.000 par mm³;
Globules blancs, 1.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 44,11 p. 100;
Lymphocytes, 41,17 p. 100;
Mononucléés, 2,94 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 4,41 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 5,88 p. 100;
Eosinophiles, 4,41 p. 100.

7 juin. — Poids, 362 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.680.000 par mm³;
Globules blancs, 1.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 56,09 p. 100;
Lymphocytes, 42,68 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,21 p. 100.

Sacrifié le 8 juin 1933, neuf jours après l'irradiation et l'inoculation, il présente une ulcération au niveau du point d'inoculation avec une petite masse indurée sous-jacente.

Examen histo-pathologique. — Au point d'inoculation, la peau est ulcérée, et à ce niveau on trouve un petit granulome fibro-conjonctif étalé en nappe sur 6 à 7 millimètres de longueur, 1 mm. 5 d'épaisseur et 4 millimètres de largeur. Par sa profondeur, il envahit les muscles, qui subissent les modifications habituelles en pareil cas. Au-dessous de ceux-ci on trouve un petit ganglion flanqué de deux petits territoires nécrosés, polycycliques, entourés de cellules conjonctives multipolaires enserrant dans les mailles formées par leurs prolongements : des lymphocytes, des mononucléés macrophages, quelques polynucléés, des cellules plasmatiques et des débris nucléaires très fragmentés. Dans cette lésion, on trouve facilement d'assez nombreux bacilles tuberculeux groupés en petits amas de cinq à dix éléments.

Le foie est très altéré, les travées hépatiques ne sont guère plus visibles. Les coupes ont l'apparence d'une mosaïque. Les

cellules, limitées par un trait d'une grande netteté, contiennent peu ou pas de protoplasma. Tantôt il n'existe que des filaments finement granuleux, tantôt des masses granuleuses plus ou moins denses, plus ou moins volumineuses, sont adhérentes à un des côtés du polygone cellulaire. Le noyau est parfois très réduit, hyperchromique, et resté seul dans la cavité, mais il peut ne pas exister. Pas de lésions inflammatoires dans ce foie qui paraît lysé.

La rate est congestionnée, surchargée de pigment ocre, sans lésions tuberculeuses.

Cobaye XII.

Irradié (540 r, 10') et inoculé le 28 avril 1933 avec de l'urine provenant d'un malade (M. C..., 28 ans) du service de M. le Professeur Duvergey. Présence de quelques bacilles dans l'urine. Diagnostic confirmé par l'intervention chirurgicale.

27 avril 1933. — Poids, 520 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 4.480.000 par mm^3;
Globules blancs, 14.000 par mm^3;
Polynucléés neutrophiles, 42,19 p. 100;
Lymphocytes, 21,38 p. 100;
Mononucléés, 10,98 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,73 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,57 p. 100;
Eosinophiles, 23,12 p. 100.

30 avril. — Poids, 493 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.560.000 par mm^3;
Globules blancs, 6.400 par mm^3;
Polynucléés neutrophiles, 47,15 p. 100;
Lymphocytes, 16,58 p. 100;
Mononucléés, 15,02 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,03 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 4,66 p. 100;
Eosinophiles, 15,54 p. 100.

3 mai. — Poids, 455 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.720.000 par mm³;
Globules blancs, 2.400 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 53,33 p. 100;
Lymphocytes, 34,81 p. 100;
Mononucléés, 6,66 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,96 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,74 p. 100;
Eosinophiles, 1,48 p. 100.

7 mai. — Poids, 438 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.720.000 par mm³;
Globules blancs, 4.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 55,72 p. 100,
Lymphocytes, 10,67 p. 100;
Mononucléés, 6,87 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 3,81 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,76 p. 100;
Eosinophiles, 21,36 p. 100;
Mastzellen, 0,76 p. 100.

Dans la nuit du 30 avril au 1er mai, c'est-à-dire trois jours et demi après l'irradiation et l'inoculation, l'animal fait un avortement. Le lait provenant de la montée laiteuse consécutive contient du pus. On y trouve de rares bacilles tuberculeux.

A partir du 3 mai, on trouve, au point d'inoculation, une induration assez forte. Le cobaye meurt le 8 mai, onze jours après l'inoculation; il pesait 462 grammes. Les lésions macroscopiques sont peu marquées. On trouve seulement une glande mammaire un peu grosse avec, au voisinage, deux petits ganglions, l'un gros comme une graine de millet et l'autre un peu plus volumineux, aplati, gros comme deux grains de millet accolés.

Examen histo-pathologique. — Au-dessous d'un revêtement cutané intact et normal, on trouve une glande mam-

maire hypertrophiée, en état d'adénomatose physiologique. Ses vaisseaux sont turgescents et ses canaux galactophores contiennent du lait. Elle est incluse dans un tissu granulomateux assez riche en cellules lymphocytoïdes, en vaisseaux remplis de sang et en cellules angioblastiques. Dans cette glande on ne peut mettre en évidence des bacilles tuberculeux Il en est tout autrement dans les deux petits ganglions qui l'accompagnent. L'un d'eux présente un petit territoire dans lequel le tissu réticulo-endothélial est proliféré. Ses cellules sont mélangées sans ordre à des cellules épithélioïdes à noyau clair, à quelques mononucléés, à quelques grandes cellules granuleuses et vacuolaires, quelques grands macrophages. En ces points les bacilles tuberculeux sont très nombreux, isolés ou en petits amas de quatre à six. On ne trouve pas de territoires caséeux. Le poumon est congestionné avec territoires présentant des lésions d'alvéolite œdémateuse et fibrineuse ainsi que des phénomènes de carnisation. Autour de quelques bronches, on note des îlots de lymphocytes. On trouve enfin, au niveau du hile, de petits ganglions gros comme des têtes d'épingle.

La rate est un peu congestionnée. Le foie est assez altéré. Ses cellules, en dégénérescence granuleuse et vacuolaire, ont un noyau bien coloré qui tranche dans la cellule bien limitée, mais vidée ou à peu près de son protoplasma. Ces lésions sont surtout accentuées au centre des lobules autour des veines sus-hépatiques.

Cobaye XIII.

Irradié (540 r, 10') et inoculé le 10 mai 1933 avec une urine provenant d'un malade hospitalisé dans le service de M. le Professeur Chavannaz (salle 9, lit 15). Cette urine contenait une très grande quantité de bacilles de Koch.

9 mai 1933. — Poids, 550 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.735.000 par mm³;
Globules blancs, 9.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 44,66 p. 100;
Lymphocytes, 40 p. 100;
Mononucléés, 9,33 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2,66 p. 100;
Eosinophiles, 3,33 p. 100.

19 mai. — Poids, 504 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.400.000 par mm³;
Globules blancs, 800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 83,33 p. 100;
Lymphocytes, 12 p. 100;
Mononucléés, 0,33 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2. p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2 p. 100;
Eosinophiles, 0,33 p. 100.

21 mai. — Poids, 487 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.600.000 par mm³;
Globules blancs, 3.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 84,43 p. 100;
Lymphocytes, 14,90 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,66 p. 100;

Le 18 mai, huit jours après l'inoculation, l'animal a présenté un chancre d'inoculation. Dans les frottis, parmi des leucocytes polynucléés et des mononucléés, on trouve un bacille de Koch tous les vingt champs microscopiques environ. Le cobaye est sacrifié treize jours après l'inoculation, il pèse 490 grammes. La lésion initiale est guérie. Il persiste quelques points de sphacèle avec une traînée lymphangitique. Pas de ganglions. Rien aux divers organes.

Examen histo-pathologique. — La peau présente, au point d'inoculation, une ulcération assez étendue dont le fond est tapissé par une croûte hémorragique avec leucocytes polynucléés et débris cellulaires divers. De chaque côté de cette ulcération l'épithélium fait un bourrelet un peu plus épais que la peau normale. Au-dessous existe un granulome formé principalement de cellules fusiformes et étoilées, avec vaisseaux sanguins très nombreux, de néoformation, bourrés de globules rouges. Ce tissu granulomateux dissocie les diverses couches musculaires qui sont désorientées, dégénérées, partiellement détruites. Il fuse jusqu'au niveau du péritoine. En certains points, dans sa partie profonde, on trouve de petits nodules arrondis formés de lymphocytes, de cellules mononucléées assez volumineuses, parmi lesquelles on trouve des ébauches de cellules géantes. Cette lésion renferme de très nombreux bacilles de Koch, bacilles du type long, groupés en amas de cinq à dix ou isolés. On en trouve dans de grands mononucléés et dans les ébauches de cellules géantes que nous avons signalées plus haut. Le poumon est congestionné, avec petits manchons lymphocytiques autour de certaines bronches. Au niveau du hile, on trouve quelques petits ganglions gros comme des têtes d'épingle. L'un d'eux présente en son centre une réaction du type granulomateux, sur laquelle nous aurons l'occasion de revenir plus longuement, avec cellules fusiformes, cellules du type réticulo-endothélial, grandes cellules mononucléées, cellules épithélioïdes, sans cellules géantes, sans fonte caséeuse.

Le foie, congestionné, est en dégénérescence granuleuse et vacuolaire.

La rate est congestionnée, surchargée de pigment d'origine hématique.

Le rein est à peu près normal, légèrement congestionné cependant.

Cobaye XIV.

Irradié (700 r en 4'30'') et inoculé le 18 août 1933 avec l'urine d'une malade (M. P..., n° 7729) dans laquelle on trouvait un bacille tuberculeux tous les dix champs environ. La malade, opérée, présentait une tuberculose du pôle supérieur du rein droit.

18 août 1933. — Poids, 365 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.320.000 par mm³;
Globules blancs, 10.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 70,95 p. 100;
Lymphocytes, 18,25 p. 100;
Mononucléés, 3,31 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 2,48 p. 100;
Eosinophiles, 1,65 p. 100.

21 août. — Poids, 365 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 6.400.000 par mm³;
Globules blancs, 3.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 74,87 p. 100;
Lymphocytes, 18,97 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,02 p. 100;
Eosinophiles, 5,12 p. 100.

27 août. — Poids, 419 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 3.840.000 par mm³;
Globules blancs, 4.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 64,49 p. 100;
Lymphocytes, 30,76 p. 100;
Mononucléés, 2,95 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 0,59 p. 100;
Eosinophiles, 0,59 p. 100;
Myélocytes neutrophiles, 0,59 p. 100.

30 août. — Poids, 383 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.040.000 par mm³;
Globules blancs, 3.600 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 39,47 p. 100;
Lymphocytes, 58,55 p. 100;
Eosinophiles, 1,97 p. 100.

Le 20, l'animal perdait facilement ses poils et présentait une légère induration au point d'inoculation qui devint de plus en plus nette. La mort survint le 1er septembre, soit treize jours après l'inoculation.

A l'autopsie, ce cobaye présentait un nodule au point d'inoculation avec des ganglions satellites. Pas de taches hémorragiques. Foie pâle. Rien aux autres organes.

Examen histo-pathologique. — Sous un revêtement cutané un peu altéré et aminci, mais persistant, on trouve un nodule inflammatoire diffus, granulomateux, s'infiltrant dans les masses musculaires sous-jacentes et ayant, dans son ensemble, les dimensions d'un petit haricot. Ce granulome ressemble à celui que nous décrirons à propos du cobaye XVI. Cependant, dans celui-ci, les cellules mononucléées paraissent plus abondantes et les cellules géantes moins nombreuses. Les muscles sont plus fragmentés et plus dégénérés et les bacilles tuberculeux moins abondants.

La rate présente deux nodules granulomateux avec cellules géantes, nodules qui ressemblent tout à fait, par les éléments qui les constituent, au bourgeon charnu classique, au granulome simple du type général.

Le poumon est congestionné, condensé, en carnisation fragmentaire. Les bronches sont entourées d'îlots lymphoïdes.

Deux petits ganglions présentent des lésions granulomateuses avec quelques cellules géantes, sans que l'on retrouve les formes schématiquement décrites sous le nom de follicules tuberculeux. Dans ces lésions, on trouve des bacilles tuberculeux en assez grand nombre. Au point d'inoculation, cer-

tains sont libres, d'autres sont inclus dans des cellules mononucléées volumineuses. Parfois courts, ils sont assez fréquemment très longs et d'aspect granuleux.

Cobaye XV.

Irradié (540 r, 10') et inoculé avec une urine provenant d'un malade hospitalisé dans le service de M. le Professeur Chavannaz (salle 9, lit 30). Cette urine contenait une très grande quantité de bacilles de Koch.

4 avril 1933. — Poids, 396 grammes. Examen du sang pratiqué avant la mise en expérience :

Globules rouges, 4.880.000 par mm³;
Globules blancs, 12.800 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 68,05 p. 100;
Lymphocytes, 10,18 p. 100;
Mononucléés, 1,38 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 0,92 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 3,70 p. 100;
Eosinophiles, 15,74 p. 100.

7 avril. — Poids, 363 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 5.160.000 par mm³;
Globules blancs, 4.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 66,50 p. 100;
Lymphocytes, 6,69 p. 100;
Mononucléés, 4,78 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 6,69 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 2,39 p. 100;
Eosinophiles, 17,22 p. 100;
Mastzellen, 0,47 p. 100.

19 avril. — Poids, 383 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.680.000 par mm³;
Globules blancs, 3.200 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 40,74 p. 100;

Lymphocytes, 39,91 p. 100;
Mononucléés, 0,82 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 9,05 p. 100;
Eosinophiles, 9,46 p. 100.

21 avril. — Poids, 377 grammes. Examen du sang :

Globules rouges, 4.960.000 par mm^3;
Globules blancs, 3.200 par mm^3;
Polynucléés neutrophiles, 18,18 p. 100;
Lymphocytes, 63,63 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 9,09 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 9,09 p. 100.

L'animal est sacrifié le 23 avril, dix-sept jours après l'irradiation et l'inoculation. Il pesait 368 grammes. Depuis le huitième jour, il présentait une petite masse rénitente au point d'inoculation. Là en effet on trouve un abcès dont le contenu renferme un très grand nombre de bacilles tuberculeux. De cet abcès partent des traînées lymphangitiques suivant le pli inguinal. On trouve un ganglion sacro-coccygien. Au niveau de la tête du pancréas on trouve une massse caséeuse et un petit ganglion. La rate est un peu grosse et légèrement bosselée. Le foie est un peu bosselé.

Examen histo-pathologique. — Au point d'inoculation, sous la peau qui est normale, à côté d'une glande mammaire congestionnée et microkystique, on trouve un nodule inflammatoire ayant les dimensions d'une lentille. Ce nodule présente des territoires assez étendus, formés presque uniquement de polynucléaires et relativement bien limités. Tout autour existe un tissu granulomateux avec des nombreux macrophages et débris cellulaires picnotiques. Ce tissu infiltre et dissocie les faisceaux musculaires qui sont en dégénérescence plus ou moins accusée.

La rate présente des territoires semi-nécrosés, elle est congestionnée, bourrée de pigment hématique.

Le poumon, congestionné, présente des manchons lymphocytiques péribronchiques.

L'intestin montre des vaisseaux sous-muqueux remplis de globules rouges et dilatés. Un ganglion juxta-pancréatique est *caséeux*, bourré de débris nucléaires très fragmentés.

Autour de l'urètre, on trouve facilement des bacilles tuberculeux, isolés ou groupés en petits amas. Le nodule sous-cutané en contient particulièrement en grand nombre.

Cobaye XVI.

Irradié (540 r, 10') et inoculé le 6 juillet 1933 avec l'urine d'un malade hospitalisé dans le service de M. le Professeur Cassaët. Dans cette urine, on trouvait un bacille de Koch tous les dix ou douze champs microscopiques.

5 juillet 1933. — Poids, 372 grammes. Examen du sang avant la mise en expérience :

Globules rouges, 5.720.000 par mm³;
Globules blancs, 8.000 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 55,95 p. 100;
Lymphocytes, 35,11 p. 100;
Mononucléés, 4,16 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,78 p. 100;
Eosinophiles, 2,85 p. 100.

Nous avons sacrifié cet animal le 2 août 1933. Nous l'avons conservé durant vingt-six jours pour pouvoir nous rendre compte de l'importance des lésions après un laps de temps suffisant parfois pour pouvoir apprécier le résultat d'une inoculation faite à un cobaye non irradié. Nous aurions pu d'ailleurs le sacrifier beaucoup plus tôt, car, dès le septième jour, il présentait un nodule au point d'inoculation.

Examen histo-pathologique. — Autour du point d'inoculation, sous un revêtement cutané intact et au-dessus de la couche des muscles abdominaux, nous trouvons une masse

mesurant 2 cm. 5 de longueur, 1 centimètre de largeur et 0 cm. 80 d'épaisseur, d'aspect blanc rosé et de consistance élastique. A la coupe, elle laisse perler en certains points une petite gouttelette de pus. Elle est constituée microscopiquement par un tissu granulomateux parsemé de petits abcès. Le granulome présente, suivant les points examinés, des aspects très différents. Tantôt sa texture est conjonctive avec prédominance de cellules jeunes fusiformes ou multipolaires; tantôt il a l'aspect du bourgeon charnu avec prédominance de cellules angioblastiques; tantôt il est constitué de cellules mononucléées arrondies, volumineuses, de cellules épithélioïdes et de cellules lymphocytoïdes; tantôt enfin ses cellules sont des plus polymorphes et mélangées de *cellules géantes* en nombre très variable. C'est ainsi qu'en certains points on trouve seulement deux ou trois cellules géantes dans un champ microscopique, alors que dans le champ microscopique voisin on en peut trouver une trentaine. Ces cellules sont très polymorphes. Les unes sont arrondies, relativement petites, ne contiennent que deux ou trois noyaux, les autres très volumineuses, de forme très variée, peuvent contenir jusqu'à quarante noyaux. Ce tissu granulomateux est infiltré de leucocytes polynucléés, surtout abondants au voisinage des abcès multiples dont il est parsemé. Sur une coupe, on compte une dizaine de ces abcès de dimensions variables. Il en est de microcospiques, le plus gros a les dimensions d'une lentille et l'on en trouve de grosseurs intermédiaires. Les cellules y sont très altérées, mais les territoires caséeux y sont absents ou très réduits.

Le poumon est congestionné. Il présente des manchons lymphocytiques péribronchiques et de petits follicules tuberculeux avec cellules géantes.

La rate présente des lésions tuberculeuses, typiques, avec centres caséeux. Les cellules géantes n'y sont pas rares.

Le foie présente une dégénérescence graisseuse légère. Il est le siège de lésions tuberculeuses : follicules avec cellules géan-

tes. Quelques petits ganglions, gros comme des lentilles, sont tuberculeux et présentent des territoires caséeux.

Dans toutes ces lésions, on trouve des bacilles tuberculeux en grand nombre. Ils sont particulièrement abondants dans le nodule initial, au point d'inoculation. Là on les trouve isolés ou en amas, libres ou inclus dans des cellules géantes ou de grandes cellules mononucléées.

COMMENT INTERPRETER NOS EXPERIENCES ?

Comme les lapins, les cobayes sont des animaux extrêmement émotifs, très sensibles aux moindres modifications apportées à leurs habitudes. Ils présentent des réactions vasomotrices aussi brusques et rapides que capricieuses et désordonnées. Aussi ne sont-ils pas des animaux de choix pour l'étude des réactions sanguines. Ce fait est une fois de plus mis en lumière par les résultats que nous avons obtenus, M. le Professeur Muratet et nous, au cours de nos expériences. Prenons comme terme de comparaison la formule type du sang de cobaye publiée par le Docteur Fichez, en 1922, dans sa thèse. Cette formule est une moyenne établie sur plus de 200 examens du sang de cobayes neufs, vivant en plein air, résultats glanés par l'auteur dans la littérature médicale (Bétancès, Charlton, Frank, Muratet, Ourloff, Sabrazès, Sunkin, Taufflieb). Voici cette formule :

Hémoglobine, 95 p. 100;
Globules rouges, 5.650.000 par mm³;
Globules blancs, 8.250 par mm³;
Polynucléés neutrophiles, 47 p. 100;
Polynucléés basophiles, 1,2 p. 100;
Polynucléés éosinophiles, 1,4 p. 100;
Lymphocytes, grands, 18 / Lymphocytes, petits, 28 } 46 p. 100;
Mononucléés, 2,28 p. 100;
Mononucléés à noyau lobé, 1,02 p. 100;
Mononucléés vacuolaires, 1,10 p. 100.

Si nous lui comparons les formules que nous avons obtenues, pour chaque cobaye, avant sa mise en expérience, nous voyons tout d'abord des différences énormes dans les taux des globules rouges et des globules blancs. C'est ainsi que, pour nos animaux, les globules rouges varient de 4.480.000 à 6.800.000 par mm³, alors que les globules blancs évoluent entre 4.400 et 20.800 par mm³. Il y a lieu cependant de noter que les taux extrêmes, aussi bien les plus bas que les plus hauts — et surtout ces derniers — sont exceptionnels. Si bien que les moyennes du Docteur Fichez, étant donné le nombre élevé d'animaux qui ont servi à leur calcul, les milieux bien différents dans lesquels vivaient ces animaux et la diversité des auteurs qui les ont examinés, peuvent être considérées comme valables. Nous ferons remarquer, en ce qui concerne les globules blancs, que Morton indique le chiffre de 12 à 15.000 en moyenne par mm³. La moyenne à laquelle nous arrivons pour les 16 animaux utilisés au cours du présent travail est de 10.000 par mm³.

Nous remarquons également que la formule leucocytaire est très variable. Certains de nos animaux présentaient des pourcentages à peu près égaux de polynucléés neutrophiles et de lymphocytes, se rapprochant ainsi de la formule de Fichez; mais d'autres avaient une polynucléose neutrophile élevée, pouvant aller jusqu'à 85,79 p. 100 par rapport au nombre de lymphocytes, qui était très bas : 7,65 p. 100.

Ce sont là des chiffres extrêmes, mais non très exceptionnels. D'autres animaux présentaient une éosinophilie élevée, jusqu'à 23,12 p. 100 (cobaye XII), et enfin un pourcentage de mononucléés vacuolaires pouvant atteindre 5 p. 100.

Nous pensons qu'il est absolument impossible de tirer des conclusions de l'examen détaillé des formules qui sont déjà si différentes chez les animaux considérés comme sains. Tout au plus pourrions-nous mentionner, pour chaque animal considéré isolément, les variations des éléments constituants de sa propre formule sans que cela nous permette d'en tirer des conclusions ayant une portée générale. Aussi nous

abstiendrons-nous de pareilles considérations. Seuls deux faits sont constants et méritent d'être retenus.

1° L'irradiation massive ne fait guère varier le nombre des globules rouges. Ces variations sont du même ordre de grandeur que celles qui surviennent chez des animaux témoins et non irradiés. Chez les animaux irradiés, les chutes les plus considérables peuvent être imputées aux hémorragies parfois très abondantes, mortelles même, provoquées par les rayons X.

2° Le fait le plus important pour nous et aussi le plus constant est la chute des globules blancs, chute qui peut être considérable. C'est ainsi par exemple que nous avons vu le nombre des leucocytes, après une seule irradiation de 400 à 500 r., tomber :

de 20.800 à 2.400;
de 18.400 à 5.200;
de 14.000 à 2.400;
de 8.800 à 1.200;
de 9.600 à 800;
enfin de 7.200 à 800, chiffre le plus bas que nous ayons observé.

Cette baisse du nombre des leucocytes dans le sang circulant n'est pas due uniquement à l'irradiation. Certes beaucoup de globules blancs sont détruits, mais d'autres facteurs interviennent pour détourner du sang bon nombre d'éléments ayant résisté à l'irradiation. L'animal privé brutalement d'une grande partie de ses moyens de défense veut néanmoins lutter, et les troupes défensives qui lui restent se rendent sur le champ où doit se livrer la bataille contre l'envahisseur. C'est ainsi que, alors que le sang circulant contient très peu de leucocytes, on en trouve en assez grand nombre au point d'inoculation et dans son voisinage, où ils peuvent même former de petits ganglions d'arrêt. Les centres producteurs de leucocytes, altérés eux-mêmes par les rayons X, ne peuvent compenser les pertes considérables subies, et le

cobaye, déjà très réceptif à l'état normal, se tuberculisera profondément et très rapidement. La leucopénie maxima se montre en moyenne entre le septième et le dixième jour après l'irradiation sans que l'animal paraisse souffrir tout d'abord, son poids ne variant que dans des limites très restreintes. Cette leucopénie minima dure quelques jours. Puis survient une hausse des leucocytes qui, lentement et progressivement, ou par à-coups successifs, peuvent revenir à leur taux initial et parfois même le dépasser. Mais cela est exceptionnel et ne se produit que chez les animaux non tuberculeux et trois ou quatre semaines après l'irradiation. Dans tous nos cas, la leucopénie a persisté plus de temps qu'il n'était nécessaire pour assurer la tuberculisation sans entraves du cobaye irradié.

L'irradiation massive du cobaye, en une seule séance, telle que nous l'avons pratiquée à la suite de Morton, n'est pas sans danger. Nous savons qu'elle peut tuer très rapidement l'animal, en vingt-quatre heures, par hémorragie. Nous savons aussi, par l'examen histo-pathologique, que, à la dose de 500 r, elle provoque chez tous les cobayes des hémorragies diffuses, des phénomènes congestifs et des lésions des organes, du foie et de la rate notamment, tels que la vie des animaux en expérience peut être compromise. Aussi pensons-nous, M. le Professeur Muratet et nous, qu'à cette irradiation unique pourraient être substituées, quand cela est possible, deux séances de 250 à 300 r chacune : l'une la veille de l'inoculation, l'autre trois ou quatre jours après. Ce point particulier fera l'objet d'un travail ultérieur avec M. Muratet.

Pour parer au grave inconvénient que pourrait présenter la mort trop rapide de l'animal en expérience, nous ne saurions trop insister sur l'intérêt que peut avoir l'inoculation simultanée de deux cobayes, l'un irradié et l'autre pas.

Chez nos animaux, nous avons pu constater au niveau du point d'inoculation, *toujours*, et au niveau des ganglions et de la rate, *parfois*, la formation de lésions que nous avons

qualifiées, avec M. le Professeur Muratet, de granulomateuses. Ces lésions doivent être recherchées et étudiées. De formation très précoce, on pourra les retrouver sur des coupes dès le quatrième ou le cinquième jour après l'inoculation. Elles sont très tranchées dans la rate et dans les ganglions. Leurs cellules, assez volumineuses, à gros noyaux clairs, contrastent avec les cellules lymphocytiques ou lymphocytoïdes, petites et à noyaux foncés. Elles peuvent s'accompagner ou non de cellules géantes. Comme la formation de ce tissu granulomateux, qui n'a rien de spécifique, peut être suscitée, au point d'inoculation, par les divers corps étrangers contenus dans le dépôt urinaire (bactéries associées, cristaux phosphatiques, oxaliques, uriques, etc), la recherche du bacille tuberculeux par coloration sur coupes et par frottis directs doit toujours accompagner l'examen histologique. Nous avons vu qu'on pouvait facilement les mettre en évidence. Ils se multiplient abondamment dans ces lésions relativement discrètes. Nos expériences, en effet, ne nous ont pas montré les grosses lésions signalées par Morton. Jamais nous n'avons trouvé de gros ganglions caséeux, jamais nous n'avons vu des granulations volumineuses et abondantes sur le foie et la rate. Les lésions les plus importantes se sont toujours montrées, sur nos animaux, au niveau du point d'inoculation; nous avons bien rencontré des ganglions, mais les plus volumineux avaient la grosseur d'une lentille et n'étaient pas caséeux; nous avons bien trouvé des lésions tuberculeuses de la rate, mais elles étaient discrètes et peu nombreuses. Quant au foie, nous l'avons surtout trouvé cytolysé par les rayons X. Bref, nous pensons que les petites lésions que nous avons pu constater, si elles ne sont pas douteuses pour l'histologiste, doivent être soigneusement recherchées à l'autopsie, sous peine de passer inaperçues. Cependant, la recherche du bacille tuberculeux au point d'inoculation, si petite que soit la lésion, sera *toujours positive*, et parfois le nombre de bacilles trouvés sera considérable, défiant tout ce que l'on aurait pu supposer. Ne pouvant faire les frais d'une réaction

de défense violente et étendue, le cobaye irradié peut être considéré comme un *milieu de culture vivant*, particulièrement apte à assurer la multiplication des bacilles tuberculeux (Prof. Muratet).

Quand peut-on sacrifier les cobayes irradiés et inoculés ? Si, reprenant nos protocoles d'expériences concernant les cobayes tuberculisés, nous essayons de voir quels ont été les incidents divers permettant d'établir le diagnostic par la constatation de lésions tuberculeuses typiques ou par la mise en évidence du bacille spécifique lui-même, nous voyons :

1° Que tous les cobayes, à partir du quatrième jour, présentaient des granulomes au point d'inoculation, granulomes plus ou moins volumineux, mais contenant tous des bacilles, en nombre plus ou moins considérable, proportionnel à la richesse initiale du produit pathologique injecté. Ces bacilles auraient pu être mis en évidence par dilacération de la lésion granulomateuse sur frottis;

2° Que, dès le quatrième jour, un des cobayes présentait au point d'inoculation un suintement purulent contenant des bacilles tuberculeux; un autre, après avortement, avait des bacilles dans le lait;

3° Que, au septième jour, le cobaye XV présentait une lésion assez volumineuse qui aurait pu être ponctionnée. Dans le cas où l'examen du produit obtenu par ponction aurait été négatif, on aurait pu conserver l'animal quelques jours encore;

4° Au huitième jour, le cobaye XIII a fait un chancre d'inoculation dans lequel nous avons trouvé des bacilles de Koch. Le cobaye XVI présentait, également au huitième jour, une masse rénitente qui aurait pu être ponctionnée;

5° Au treizième jour, nous avons trouvé des cellules géantes dans le granulome et dans la rate du cobaye XIV.

Nous pouvons donc penser que les animaux peuvent être sacrifiés entre le treizième et le quinzième jour. A ce moment, les lésions seront suffisantes, complètes et démonstratives. Nous avons vu que, dans la plupart des cas, le diagnostic

pourra être assuré plus prématurément à la faveur d'un incident heureux : abcès, chancre, ulcération, grosse lésion s'ouvrant spontanément à la peau ou ponctionnable.

Nous ajoutons que tout cobaye ayant survécu trois ou quatre jours seulement à l'irradiation et à l'inoculation et mort spontanément doit être soigneusement examiné. La pullulation du bacille tuberculeux au point d'inoculation est telle que sur frottis on pourra en retrouver. C'est ainsi que nous en avons décelé dans le tissu inflammatoire autour du point d'inoculation chez notre cobaye IX. Cet animal avait été inoculé avec un dépôt urinaire ne renfermant que de très rares bacilles. Nous en avons trouvé également, en nombre notable, chez le cobaye X, alors que nos recherches dans l'urine inoculée avaient été infructueuses.

CONCLUSIONS

Nombreux sont les procédés mis en œuvre dans les laboratoires pour établir le diagnostic biologique de la tuberculose urinaire. Tous ils doivent tendre à éliminer les causes d'erreur, à faciliter la recherche du bacille spécifique et à assurer sa mise en évidence dans les délais les plus brefs. Nous avons pensé faire œuvre de quelque utilité en indiquant dans le présent travail les règles à suivre et les procédés, sinon les meilleurs, du moins parmi les plus propres à atteindre le but proposé.

1° On doit n'examiner que des urines recueillies aseptiquement dans des flacons propres et stérilisés.

2° La recherche des bacilles de Koch doit être consciencieusement faite sur des frottis multiples du culot de centrifugation urinaire après coloration par la méthode de Ziehl-Nelsen. Cette recherche peut être parfois très longue, les bacilles étant d'une excessive rareté. Elle peut aussi être négative. Dans ce cas, il y a lieu de répéter l'examen sur de nouvelles urines, à des intervalles assez éloignés en raison des décharges bacillaires possibles, si irrégulières tant dans leur fréquence que dans leur importance et si bien connues à l'heure actuelle des urologistes.

3° Si trois examens successifs pratiqués dans les conditions ci-dessus mentionnées sont négatifs, on doit pratiquer la culture sur milieu de Lœvenstein et l'inoculation à deux cobayes. Tout d'abord on cherchera à se débarrasser des bactéries associées au bacille tuberculeux, et pour cela nous

conseillons la technique de E. Aubertin et A. Fontan, qui peut être utilisée même par injection intrapéritonéale et ne diminue en rien, pratiquement, la vitalité et la virulence du bacille de Koch. Aussi le même culot de centrifugation pourra-t-il servir pour la culture et pour les inoculations.

La culture viendra confirmer le résultat de l'inoculation et permettra la diagnose des types bacillaires si intéressante dans les tuberculoses urinaires.

L'inoculation sera faite sous-cutanée ou intra-abdominale à deux cobayes, dont l'un sera irradié et l'autre pas. L'irradiation soit en une seule séance (400 à 500 r), soit en deux séances, ainsi que nous l'avons indiqué au cours de notre travail, permettra d'obtenir un résultat en quinze jours au maximum, mais, le plus fréquemment, en un temps beaucoup plus court. En cas de mort trop précipitée du cobaye irradié, le second cobaye, non irradié mais inoculé, restera et il n'y aura pas de temps perdu.

Ces deux animaux seront très surveillés, le premier, irradié, tout particulièrement, afin de tirer parti de tous les incidents pathologiques pouvant permettre le diagnostic précoce (suppuration, ulcération, granulomatose ponctionnable ou même opérable).

Se bien rappeler que, dès le quatrième jour, par la méthode des coupes, on peut arriver à un diagnostic précis. L'expérience aura duré une semaine à peine et le temps ainsi gagné sera précieux pour l'avenir du malade.

Vu pour le Doyen :
L'Assesseur,
J. GUYOT.

Vu, bon a imprimer :
Le Président :
L. MURATET.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 5 janvier 1934.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

ERRATA

Page 31, ligne 19e, *au lieu de :* 12 cm³ de glycérine à 30 p. 100 neutre, *lire :* 12 cm³ de glycérine neutre à 30°.

Page 39, 18e ligne, *au lieu de :* Lévy-Valensi, *lire :* Lévi-Valensi.

Page 48, 14e ligne, *au lieu de :* Tension, 105 kilovolts, *lire :* Tension, 150 kilovolts.

Page 92, 5e ligne, *au lieu de :* Lévi-Valensi et Soufrani, *lire :* Lévi-Valensi et Loufrani.

BIBLIOGRAPHIE

Aubertin (E.) et Fontan (A.). — Sur un procédé d'inoculation des produits septiques au cobaye pour le diagnostic de la tuberculose. *C. R. Société de biologie*, t. L, XXXVIII, n° 2, p. 118, 1923.

— Quelques remarques sur les inoculations de produits bacillifères au cobaye. *C. R. Société de biologie*, t. XXXVIII, n° 2, p. 118, 1923.

Auche (B.) et Augistrou. — Société de biologie, 1er février 1910.

Besançon et Philibert. — Société de biologie, 10 janvier et 7 février 1903.

Blanco (J.). — *Boletin Instituto nacional de Hijieno de Alfonso XIII*, 31 mars 1917, p. 9.

Calmette (A.). — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux, 2e éd., Masson édit., 1922.

— L'infection tuberculeuse spontanée du cobaye et du lapin. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. L, n° 2, février 1933 ; *Revue de la tuberculose*, 4e série, t. I, n° 2, février 1933.

Calmette (A.), Breton (M.) et Petit (L.). — Société de biologie, 12 oct. 1907.

Ellermann-Erlandsen. — Cités par Butler d'Ormond. *Journal des praticiens*, 1er nov. 1919, p. 694.

Fichez (A.). — Contribution à l'étude des injections hypodermiques d'oxygène. Variations de la formule hémoleucocytaire chez le cobaye. Thèse Bordeaux, déc. 1922.

Grysez (V.) et Breton (A.). — Réaction de Vernes à la résorcine et tuberculose du cobaye. *C. R, Société de biologie*, t. CI, 1929, n° 22, p. 694.

— Emploi de la réaction de Vernes à la résorcine dans le diagnostic de la tuberculose du cobaye. *Annales de l'Institut Pasteur*, t, XLIII, 1929, p. 1011.

Jeanbrau (E.). — Précis de pathologie chirurgicale, t. IV, p. 60.

Lévi-Valensi (A.) et Soufrani (M.). — La réaction de Vernes dans la tuberculose expérimentale du cobaye. *C. R. Société de biologie*, t. CXII, n° 13, avril 1933, p. 1343.

Lœwenstein. — (Pour la préparation du milieu de)

a) *Wien. Med. Woch.*, 4 juin 1927.

b) *Deut. Med. Woch.*, n° 24, 1930.

c) *Zent fur Backt.*, t. 120, 23 févr. 1931, p. 127.

d) *Klin. Woch.*, 23 mai 1931, p. 976.

Mantoux (Ch.). — Académie des sciences, 10 août 1908. Société de biologie, 3 juill., 23 oct. et 4 déc. 1909.

Mantoux (Ch.) et Perroy. — Société de biologie, 10 juin 1911.

Marcet (W.). — Tr. Med. Clin., 1867, 437.

Morton (J.). — Méthode rapide pour le diagnostic de la tuberculose rénale à l'aide de cobayes soumis à l'action des rayons X. *The journal of experimental medicine*, vol. XXIV,, n° 4, 1er oct. 1916.

Muni (C.) et Bretey (G.). — Société de biologie, 20 mai 1933.

Murphy, Jas (B.) and Ellis (A. W. M.). — *J. Exp. Med.*, 1914, XX, 397.

Murphy, Jas (B.) and Morton (J. J.). — *J. Exp. Med.*, 1915, XX ii, 204.

Nasta (M.), Jovin (J.) et Blechmann (Bucarest). — *C. R. Société de biologie*, t. C, p. 908, 1929, et t. CIII, p. 1361, 1930.

Nègre (L.), Valtis (J.). Van Deinse (F.) et Beerens (J.). — Sur les services que les injections sous-cutanées de substances cirograisseuses du bacille de Koch peuvent rendre dans le diagnostic de la tuberculose par inoculation au cobaye. *Presse médicale*, n° 103, 24 déc. 1932.

Park (W.) et Krumwiede. — *Journ. of. medic. Research*, 1910, XXIII, fasc. 2, p. 205-368, et 1911, XXV, fasc. 2, p. 313-334.

Ranque (A.) et Senez (Ch.). — *Index bibliographique médical*, n° 8, février 1931, p. 3.

Saenz (A.) et Eisendrath (D.). — La microculture et son importance dans le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines. *C. R. Société de biologie*, 23 avril 1932; *Presse médicale*, n° 99, 10 déc. 1932, p. 1856.

Toeni (I.) et Thayssen (A. C.) — *Centralblat f. Bakt.*, 1916, V. LXXVII p. 308.

18.283: — Bordeaux, Imprimerie-Librairie de l'Université, 6, pl. St-Christoly. — 1934